

بساط في
الجراثيميات الطبية

القسم الأول

المبادئ النظرية الأولى - طرائق التعرف على الجراثيم في العينات
أوساط الزرع والطرق المطهرة

إعداد

الدكتور محمد خليل الدبش الدكتور إياذ عمر تنبكي

بساط في
الجراثيميات الطبية

القسم الثاني

معاملة العينات - التحسس الدوائي واجراؤه
الحّمات والريكتسيات والميكوبلازما
مبادئ المناعيات العامة والاختبارات المناعية الشائعة

إعداد

الدكتور محمد خليل الدبش الدكتور إيا د عمر تنبكي

الطبعة الأولى
عدد النسخ ١٠٠٠
حقوق الطبع والنشر محفوظة للمؤلف
١٩٩١م / ١٤١١هـ

دمشق ص . ب ١٠٠٧٠
هـ ٢١٨٤٤٧

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



نُقل عن الأصفهاني قوله :

«إني رأيتُ أنه لا يكتب أحدُ كتاباً في يومه ، إلا قال في غايته :

لو غُيِّرَ هذا لكان أحسن ،

ولو زيدَ هذا لكان يُستحسن ،

ولو قُدِّمَ هذا لكان أفضل ،

ولو تُرِكَ هذا لكان أجمل .

وهذا من أعظم العِبَر ، وهو دليل على استيلاء النقص على جملة

البشر . . . »

فالشكر الجزيل لكل من يُنبهنا إلى أخطائنا . .

المُعَدَّان

مقدمة السلسلة

نحتاج المكتبة العلمية العربية إلى الكتب التي تعالج الموضوعات الطبية الاختصاصية بشكل مبسط وعملي دون إفراط بالغوص النظري ولا تفريط بالمعلومات الأساسية التي لا بد منها، وبحيث تعرض الأفكار العلمية المتجددة وتطبيقاتها المتنوعة ضمن قالب لغوي علمي واضح سهل المتناول والتطبيق للعاملين في الاختصاص الطبي على مختلف مؤهلاتهم العلمية.

نحن حالياً بين مستويين متباينين من الكتب الطبية المطروحة بين أيدينا في المكتبات: تغطي الأولى منها مواضيع طبية اختصاصية متنوعة وموجهة للاختصاصيين حصراً، والثانية مبسطة جداً وهي بدورها موجهة لعوام الناس القارئين.

لقد سعينا في هذه السلسلة الحديثة بجهد ما استطعنا إلى ذلك سبيلاً لتقديم مبسطات علمية واضحة في اختصاص الطب المخبري وهي هنا تخاطب جميع العاملين في هذا الحقل الطبي الواسع والمتجدد، بدءاً من الفنيين المخبريين وحتى الاختصاصيين المخبريين، وهذه السلسلة العملية تُركّز على العلوم الأساسية المطلوبة والتحليل المجرة يومياً في المشافي والمختبرات الطبية الخاصة، وذلك بشكل شامل وكاف واعتماداً على مصادر يُعتمد بها في الطب المخبري مع سَبْك منهجي سلس ربما أجدناه من

خلال ممارستنا العمل المخبري لمدة تنوف عن العشر سنوات في مخابر
ومشافي جامعة دمشق ومخابرنا الخاصة. نرجو من الله تعالى أن يجعلها علماً
نافعاً لطلابنا وللزملاء العاملين في مختبرات التحاليل الطبية.

الدكتور

إياد عمر تنبكي

دكتور في الطب البشري

ماجستير في الطب المخبري

محاضر في المعهد الطبي

بجامعة دمشق

الدكتور

محمد خليل الدبش

دكتور في الطب البشري

ماجستير في الطب المخبري

محاضر في المعهد الطبي

بجامعة دمشق

﴿بسم الله الرحمن الرحيم﴾

تحدّثنا في القسم الأول السابق من الجراثيميات الطبية، والذي احتل الرقم ٢ في سلسلة «للممارسين في المختبر الطبي العام»، تحدّثنا عبر عدة أبواب عن ما يلي :

- المبادئ النظرية الأولى .
- طرائق التعرف على الجرثوم في العينات المرضية .
- أوساط الزرع الجرثومية والطرق التفريقية المطبقة .
- وها نحن الآن بين يدي القسم الثاني، والذي يحتل رقم ٣ من هذه السلسلة، وهو يبحث في تنمة الموضوعات العملية التالية :
- استقبال العينات الجرثومية وشروط معاملتها في المختبر .
- المعالجة الكيميائية المضادة للجراثيم وطرق إجراء التحسس الدوائي في المختبر .
- الحُمّات الراشحة والريكتسيات والمتدثرات والمفطورات .
- المناعيات العامة ومبادئ تفاعلاتها والاختبارات الشائعة .
- فلنتابع معاً .

الباب الأول

شروط استقبال العينات ومعاملتها

في المختبر

مسحات البلعوم والأنف - القشع - البول - القيح والنتحات

القيحية - المني - النجيج الاحليلي - البراز - الدم -

سوائل الأجواف المصلية والسائل النخاعي .

شروط أخذ العينات ومعاملتها

للفحص المباشر والزرع الجرثومي

لكل عينة جرثومية شروط يجب مراعاتها، حتى نتوصل إلى التشخيص الصحيح ثم المعالجة الصحيحة، والإخلال بشروط أخذ العينة منّا أو من المريض سيؤدي حتماً إلى نتائج خاطئة، تضيّع الصحة والوقت والمال دون طائل.

- يجب أن ترسل العينة إلى المختبر بأسرع ما يمكن، إذ ربّما أدى التأخير إلى موت بعض العُصَيَّات الممرضة الحسّاسة، أو إقلاها، مع السماح لعُصَيَّات أخرى، ملوثة للعينة، بالنمو والتكاثر، بل قد يكون تكاثر العُصَيَّات الملوثة أكثر بكثير من معدل تكاثر العُصَيَّات الممرضة، فتغطي جراثيم التلوث على العامل الممرض الأصلي (كالعصيات الهوائية في البلعوم - النايسريات النزلية في الطرق التنفسية العليا والقشع - جراثيم النبيت الطبيعي في البراز...).

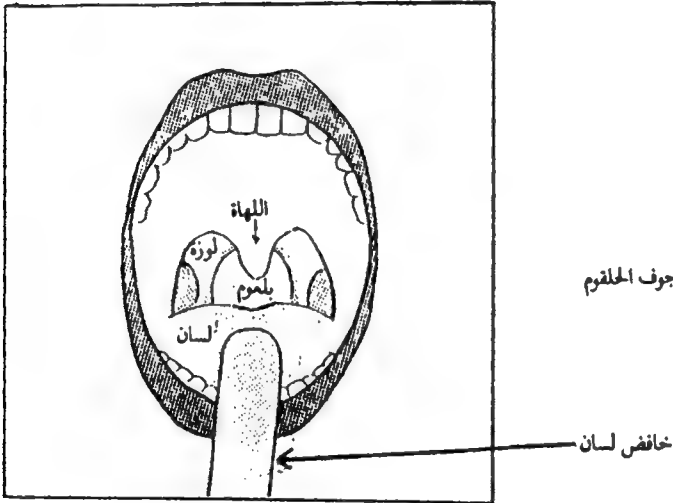
- يُسأل كل مريض جرثومي عن تناوله لأي صابون حيوي قبل ٣ - ١٠ أيام من إجراء الزرع، ونوضح للمريض شروط أخذ العينة كما سيأتي، وعند أخذ العينة نؤكد من أنها نموذجية أم لا، وتُرفض العينات غير النظامية دون تردد مع إيضاح السبب للمريض، وربما تؤجّل إلى أجلٍ مسمّى يُنصح فيه المريض.

- تجمع العينات في أوعية معقمة ملائمة بفوهتها وحجمها ومادتها وإحكامها، للعينه المرسله، وتُجرى اللطاخات الجرثومية مباشرة - عند الطلب - مع تلوينها بطريقة التلوين الملائمة، فهذه اللطاخات تعطينا والطبيب فكرةً مبدئية عن سبب الخمج مع إعطاء العلاج السريع بشكل مبدئي للمريض، كما يساعدنا ذلك في اختيار مستنبتات الزرع الأولى الملائمة (ر: فوائد تلوين غرام لمحضرّات القيح في القسم الأول - الباب الثاني).

مسحات البلعوم والأنف

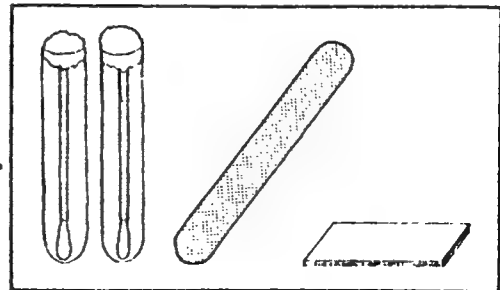
Throat and Nasal Swabs

* تُؤخذ عينة الصباح على الريق، خشية التلوث ببقايا الطعام في الفم، أو خشية ابتلاع قيق اللوزات والبلعوم مع الطعام، أو خشية زوال قيق الأنف بالاستنثار الصباحي، بمساعدة خافض لسان وضوء مصباح،



الشكل (١): صورة تخطيطية للحلق،

مع الأدوات اللازمة لأخذ مسحات البلعوم واللوزات



مسحات قطنية معقمة خافض لسان صفائح زجاجية للطاخات

نفتش عن المنطقة المخموجة الحاوية على أغشية أو مفرزات قيحية، فنأخذ عينة من تلك الأماكن المشبوهة بهاسحة قطنية معقمة، ثم نزرع مباشرة على الأوساط التالية :

- أنبوب ثيوغليكولات (قد يُستغنى عنه) - آغار مدمى - آغار شابمان - آغار ناخب لسليبات الغرام (EMB - أو ماكونكي . .) ومُحْضَن الجميع بجو زائد من الـ CO_2 ، كما ونزرع علبه آغار مدمى ومصبوبة ومُحْضَن لدراسة انحلال الدم بشكل أفضل، وقد نزرع علبه آغار مدمى ومُحْضَن بجو لا هوائي لنفس الغرض .

- تضاف أوساط خاصة عند الحاجة : كوسط لوفلر «للتوتديات الخنثائية» - آغار لمحببات الدم «آغار شوكلاتي مع عوامل النمو» . . ؛ وسط تاير مارتين للنيسيريات السحائية - أوساط زرع الفطور : مرق سابورو، أو آغار سابورو دكستر وز أو مرق BHI . كما ونجرى عند الحاجة لطاخات للتلوين بملون غرام أو بزرقة الميتيلين .

* الجراثيم المعزولة الشائعة :

نحن حيال منطقة تحوي نبتاً جرثومياً متنوعاً في الفم والبلعوم والأنف، لكن اجتياح مستنبت الزرع من قبل جرثوم واحد منها، وطفغائه على الباقي يدل على صلته بإحداث الخمج . «ر: الزمرة الطبيعية في القسم الأول - الباب الأول» .

ويشكل رئيسي تكون العضيات المسببة: العقديات الحالة B أو العقديات الحالة α المخضرة - العقديات (إيجابية المخترز والمانيتول) - وعصيات سلبية الغرام خاصة عند الأطفال والمدخنين. المبيضات البيضاء: وهذا الرباعي الممرض هو الأكثر تواتراً في إحداث خمج البلعوم.

- للحكم السريع بالتشخيص قد نلجأ لتطبيق اختبارات التراص النوعية المباشرة أو باللاتكس على الصفيحة، لزمر: العقديات أو العقديات أو النيسريات السحائية . . .

- هناك جراثيم أخرى تسبب الخمج بتواتر أقل بكثير هي: السوتديات الخنّاقية - المزدوجات الرئوية - النيسريات السحائية - مُحَبَّات الدم وغيرها . . .

عينات القشع

Sputum Specimens

* اعتبارات عامة :

القشع إنتاج مرضيٍّ للقصبات التنفسية المصابة، وبالتالي فهو يعكس الحالة المرضية للرئتين والشجرة القصبية، في حين أن اللعاب مفرز غريزي من العدد اللعابية في الفم، ويجب حذفه من عينة القشع ما أمكن .
- تجرئ على القشع فحوصات شائعة عديدة يهملها عملياً مايلي : تحري العصيات المقاومة للحمض بالتلوين المقاوم للحمض (تسيل نلسون أو كينيون . . .) - فحص القشع بطريقة غرام لتحري الجراثيم والفطور - تحري محبات الحمض «الإيوزينيات» بالقشع في آفات الصدر التحسسية كالربو، بتلوين رايت أو غيمزا - زرع القشع الجرثومي المتوالي - زرع القشع قبل التجنيس وبعده لعزل عصيات السل . وهناك تحريات نسجية للتشريح المرضي .

- يجب فحص القشع فحصاً عابياً أولاً، نحدد فيه : المظهر واللون .
الرائحة، كان نقول : [القشع رقيق أم كثيف، قليل أم غزير . مدّى حيوية ذبقة أم بنقاط أم مترافق بنفث دم صريح، قيحيّ نّين، أو مخاطيّ -
كثيف لزج «عند مرضى الربو» أو صدئي أو بني فاتح أو رغوي زهري «وذمة الرئة عقب استرخاء القلب الإحتقاني» ، أورمادي كامد، أومسودّ، أو مخضر، أو حارٍ على قطع التجبن «نسيج رئوي متموت ومتخثر كما في حالات

السل المترقي»].

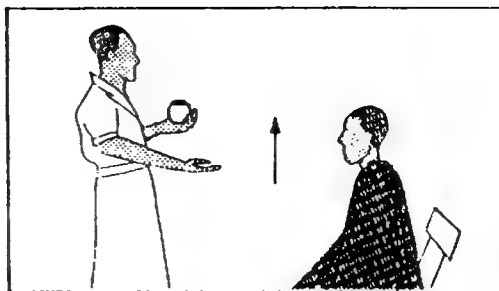
* تعليمات إخراج القشع «التقشع» :

تُفَضَّلُ عينة الصباح الباكر بُعيد الاستيقاظ مباشرة، ويمكن تجاوز هذين الشرطين عند المرضى الذين يتقشعون باستمرار، وبعد مُضْمَضَة الفم بالماء العادي عدة مرات، ودون تناول أية مادة أخرى عن طريق الفم، لمنع تلوث القشع باللعاب أو بالبقايا الطعامية، علماً أن القشع صباحاً يكون أغزر عادة عند المرضى من الأوقات الأخرى لتجمُّعه في القصبات طيلة الليل.

- أما عند الأطفال فإنهم لا يعرفون التقشع خارجاً، ولا بدّ عندهم من إجراء رُشافة للقصبات من قبل الطبيب الصدري، أو إجراء فحص لثُقالة سوائل غسل المعدة عندهم؛ كما أن بعض المريضات أيضاً يملن أيضاً لابتلاع القشع وعدم نفثه خارجاً كما يفعل الرجال؛ وعموماً نستطيع تحريض التقشع عند المرضى الذين لا يسعلون بإنشاقهم أبخرة مزيج حارٍ من محلول غُرْش خفيف ليحرِّض السعال لديهم، ونحصل على القشع منهم.

- يكون المريض حين التقشع بوضعية قائمة ما أمكن، ويستوي قاعداً فيها إذا كان مضطجعاً، ثم يأخذ شهيقاً عميقاً إلى مداه الأقصى، والآن يجري حركة الزفير مصحوبة بالسعال بقوة وعمق دفعة واحدة، ثم يتفّل بوعاء عقيم ذي فوهة واسعة مناسبة، وقد يضطر لتكرار هذه الحركة للحصول على القشع المطلوب.

١. ينبغي أن يكون المريض
لي وضع قائم إن أمكن.



٢. يأخذ نفساً عميقاً جداً يملأ رئتيه.



٣. يفرغ رئتيه برفير واحد،
ويستنزل بأفوى وأعرق ما يستطيع.



٤. يتنفل ما يصل إلى فمه في
حنجور النموذج.



الشكل (٢) طريقة التفشع وتعليمه للمريض

- إن واجب المخبري تعليمُ المريض طريقةَ التقشع بوضوح وبساطة مع التمثيل .

- تُزرع الأوساط الجرثومية التالية منوالياً: أنبوب ثيوغليكولات (وقد يُستغنى عنه) - علبة غراء مدمى للحضن الهوائي وأخرى غراء مدمى مصبوبة لدراسة الإنحلال . (رَ: طرق الزرع بالقسم الأول - الباب الثاني) - وسط ناخب لسليبات الغرام (E.M.B - أو ماكونكي) - آغار شوكلاتي مع عوامل النمو عند الحاجة . يُحضن الجمعُ بجوزائد الـ CO2 لمدة ١٤ - ١٨ - ٤٨ ساعة حسب الحاجة .

- قد نستعمل أوساطاً خاصة أخرى عند الحاجة : كوسط بُورده جِنْكو للمستدميات الشاهوقية - أوساط الفطور: كوسط سابورودكستر وز مع الصادات الحيوية لتعزيز نخبه أو دونها أو غراء BHI مع الصادات والدم .

كشف عصيات السل في القشع :

تُجرى تحريات عصيات السل على القشع قبل عملية هضم القشع وبعدها .

- يقصد بعملية الهضم أو تجنيس القشع : فك لزوجة القشع وحله ، وإتلاف الجراثيم الأخرى الملوثة ، مع الحفاظ على حياة العصيات السلية وزيادة تركيزها أيضاً .

- تُجرى اللطاخات من الأمكنة المشبوهة من القشع (دم - قيح - اخضرار - أو كدرة : بلون القشع ، الأمكنة اللزجة الشخينة . .) قبل هضمه ، وكذلك من الثفالة المركزة الناتجة من القشع المهضوم .

تجري عملية الهضم بعدة طرق ، سنصف منها طريقة ماءات الصوديوم :

- تُنقل عينة القشع إلى أنبوب تثفيل عقيم ذي غطاء محكم ؛ وتضاف إليه كمية مساوية من محلول ماءات الصوديوم ٤٪ المعقمة ؛ نمزج بشدة بالمزاجة الآلية لمدة ١٥ دقيقة ؛ ثم يُثفل الناتج بسرعة عالية لمدة ٢٠ دقيقة ؛ يُبان الطافي ؛ وتضاف قطرة من محلول مشعر زرقة البروموتيمول المعقم (بالحامض : أصفر ، بالقلوي : أزرق) ، ومن ثم تعدّل الثفالة بشكل مضبوط بحمض كلور الماء 2N المعقم حتى الحصول على اللون الأصفر ؛ ثم يعدّل ثانية بماءات الصوديوم ٤٪ المعقمة حتى ظهور اللون الأزرق بثبات ؛ وباستعمال ممصات باستور المعقمة تُحضّر لطاخات للتلوين المقاوم للحمض من الثفالة الناتجة ، كما وتزرع على وسط لوفنشتاين جونسون بالبيض ، وقد يضاف غراء 7H-11 لعزل العصيات السلية .

- ننتظر لمدة ٤ - ٨ أسابيع للحكم على سلبية الزرع .

ملاحظة :

قد يكتفي البعض بإجراء اللطاخات المباشرة من القشع ، وكذلك زرع السل ، من أمكنة القشع المشبوهة دون إجراء التجنيس ، على خلاف فيما بين المصادر .

* أهم الجرائم التي يمكن عزلها من القشع المرّضي :
العقديات الرثوية - الكليسيّة الرثويّة - العقنوديات الذهبية -
المكورات الدقيقة - المُستدميات النَّزليّة - المتفطّرات السّليّة - وغيرها .

عينات البول

Urine Specimens

* اعتبارات عامة :

- البول سائل عقيم في مستودعه بالمثانة، غير أنه عُرضة للتلوث بسهولة عند خروجه، خاصة عند النساء، وهذا ما يجب حذفه من العينة.

- إن مصدر الجراثيم الممرضة في البول (البيلة الجرثومية)، إما من الجهاز البولي بالذات، أو من مكان آخر نغموج في جسم المريض، وعندما يكون مصدر الخمج جهاز البول نفسه، فإننا لا نستطيع تحديد مكانه هل هو علوي (كلية - حويضة - حالب) أم سُفلي (مثانة - إحليل) في المختبر الطبي.

- إن فحص البول والراسب البولي المتوالي، مع تلوين التُفالة بملون غرام أو غيرها، لا يقلل مطلقاً من قيمة الزرع، إذ تبقى للأخير الأولوية في تشخيص خمج السبيل البولي بتحديد الجرثوم المرض مع عدد مستعمراته في مل بول، وإجراء التحسس الدوائي له.

- ينظّم خمج السبيل البولي الحاد Acute urinary Tract Infection

بوجود الكريات البيضاء في الراسب البولي بمقدار يساوي أو أكثر من ١٠ / ساحة المجهرية بالتكبير $\times 40$ (البيلة القيحية Pyuria) إضافة لوجود الجراثيم الممرضة بكميات كبيرة (البيلة الجرثومية Bacteriurea) معاً، غير أن هذه النسبة معتبرة من الحالات تكون فيها البيلة الجرثومية بمفردها هي الدلالة على وجود الخمج البولي.

* شروط عينة البول منوالياً :

: يُفضَّل الحصول على العينة من اليُّلَّة الصباحية الأولى وعلى السريع ، (ويمكن تجاوز هذين الشرطين فيما إذا كانت الأعراض حادة صاخبة) ومن وسطها (عينة وسط الإبالة Midstream) ، سواء لإجراء فحص البول والراسب أول للزرع الجرثومي (وحتى لإختبارات الحمل المناعية على البول أيضاً) ، على أن يوضع البول في وعاء عقيم يطلب سلفاً من المختبر ، وذلك بعد تطبيق الشروط التالية :

أ - عند الذكور :

تُنظف منطقة صِباخ الإحليل جيداً بالماء والصابون ، ثم قد يطبق محلول مطهر لطيف مناسب ، وتنتظر حتى جفافه تماماً ، ثم يبدأ المريض بالتبول ، وبشكل منوآلي : تُلقى الكمية الأولى خارجاً ثم يُملأ وعاء جمع البول العقيم المهيأ بعدها ؛ قد يكون طلب الطبيب المعالج إجراء الفحوصات على عينة بداية الإبالة فقط لتحري آفات الإحليل ، أو على عينة آخر الإبالة لتحري آفات المثانة ، فتتقيد بالمطلوب حينئذ .

ب - عند النساء والبنات الصغار :

- نذكر هنا أن عملية التبول عندهن يمكن تشبيهها برشاش بول للمنطقة التناسلية (دش بولي) ، وعلى هذا نؤكد على اتباع الشروط التالية :

تُنظف كامل المنطقة ظاهراً وباطناً بالماء والصابون ، وتحفف بأوراق

نظيفة، وقد يُمسح الصمّاح بمُطَهِّر لطيف ملائم، وبعد الجفاف تبدأ المريضة بالتبول حيث تُلقي الكمية الأولى خارجاً، وتضع الباقي في وعاء جمع البول العقيم المهيأ؛ ويمكن تجاوز شرط تطبيق المُطَهِّر فيها إذا كانت المرأة من المتطهرات لإعتنائها بنظافتها أصلاً.

جـ - عند الأطفال الصغار (بالحافظات):

توجد أكياس خاصة معقمة من اللدائن الطرية: سهلة الاستعمال، وتطبق عند البنات والصبيان: حيث تُعلَّم الأم طريقة وضع الكيس الخاص دون تلويثه بالأيدي أو براز الطفل أو بياضه وخرقه:

تُنظف منطقة التبول وما حولها ظاهراً وباطناً بالماء والصابون جيداً، ثم تجفف بأوراق نظيفة، وقد نصح الصمّاح بمطهر لطيف مناسب، وعند الجفاف تماماً تُلصق الأم الكيس المهيأ سابقاً دون أن تلوّثه من باطنه مطلقاً، وبحيث يغطي منطقة التبول فقط دون إشراك فوهة الشرج، لتجنب التلوث بالغائط؛ يُترك الكيس على وضعه لبضع ساعات ثم يُنزع بلطف وتلصق فوهته بإطباقها على اللاصق، ثم يوضع في غمده الأصلي ويُرسَل إلى المختبر بسرعة.

د - تحري عصية السل في البول وزرعها:

يفضل جمع كامل بول ٢٤ ساعة في وعاء عقيم، وقد نكتفي بكامل البيلة الصباحية الأولى، وعند إحضار العينة نقوم بتكثيفها لعدة مرات للحصول على ثقافات، ونعاود تكثيفها مجدداً بالتثليل... وهكذا، وفي آخر

المطاف نحصل على بضع ميليلترات من الثُفالة المُركَّزة التي تشكّل مكثف بول العينة كاملاً.

تُجرى تحريات عصيات السل على هذه الثُفالة المركزة الناتجة.
- ملاحظة :

يجب زرع عينة البول بأسرع ما يمكن، ذلك أن البول في حرارة المختبر (20°C - 25°C) وخاصة في الصيف، يشكل وسطاً زرعياً ملائماً لنمو الجراثيم وتكاثرها، وفي حال خشية التأخر، يمكن حفظ العينات بالبراد لعدة ساعات قبل معاملةها.

الزُّرع :

منوالياً: يزرع البول على الأوساط الجرثومية التالية : الأغار المدمى ، وسط ناخب لسليبات الغرام (E.M.B - ماکونکی) ، ولا نستخدم عادة مرق الثيوغليكولات ، وقد نستخدم أوساطاً خاصة لعصيات السل أو الناسيريات عند الحاجة .

- تعداد المستعمرات البولية :

تسمح الدراسة الكمية لعدد المزارع الجرثومية البولية بالتمييز غالباً بين الحُمج البولي الحقيقي والتلوث الخارجي، إذ تُقرَّر بملاحظة أعداد كبيرة من الأحمج البولية أن :

أ- وجود ١٠٠ ألف جرثوم/ مل بول أو أكثر ($\leq 10^5$) يُعدّ مشخصاً لحُمج السبيل البولي الحاد باحتمال كبير، شريطة أن تطبق قواعد الطهارة السابقة في جمع عينة البول.

ب - عدد الجراثيم الذي يقل أو يساوي عن ١٠ آلاف جرثوم/ مل بول (\geq ٤١٠) ينفي باحتمال كبير الخمج الحاد، بل قد يرجع التلوث.

ج - عدد الجراثيم الذي يتراوح بين ١٠ - ١٠٠ ألف جرثوم/ مل بول (٤١٠ - ٥١٠) قد يدل على خمج: حاد، أو مزمن، أو ناكس، أو خمج معالج بالصادات الحيوية معالجة ناقصة، أو تلوث ما أثناء التبول، أو سوء حفظ العينة في المختبر أو عدم مراعاة شروط الطهارة السابقة عند أخذ العينة، وقد يلجأ الطبيب المعالج في مثل هذه الحالات إلى إعادة الزرع ثانية إن لم يتوصل إلى تفسير شافٍ يتوافق مع الحالة السريرية للمريض.

- يجب تحري الراسب البولي النظامي لكل عينة زرع بول، وذلك لكشف الخلايا القيجية والتوسفية فيها، وعند نمو أكثر من نوع واحد من الجراثيم بالزرع، مع وجود الخلايا التوسفية بغزارة في الراسب البولي أصلاً، فإن هذه دلالات قوية على وجود التلوث.

- مما سبق نقرر أن «كل زرع بولي دون إجراء عد مستعمراته الجرثومية في المليلتر لا قيمة له».

طرق عدّ المستعمرات البولية:

نُجمل طرق العد كما يلي:

أ - اختبارات الكشف العامة: وهي متنوعة وغير دقيقة بكفاية، وتستعمل عادة لأعمال التقصّي Screening الوبائي، وهي لا تنطبق في المختبرات الطبية العامة والخاصة، ومثالها: فحص قطرة عبيطة من البول المزوج لتقدير عدد الجراثيم بالساحة - اختبار قلب النترات إلى نترت . . .

ب - اختبارات نصف كمية : سهلة التطبيق ومتشعبة ، ويقبل بدقتها بأيدٍ مَهْرَة ، وذلك باستخدام غانة معايرة (بقطر ٣ ملم مثلاً) وعند غمسها في البول فإن عُروتها ستحمل كمية تقدر بـ ٠,٠١ مل بول وأخرى تحمل ٠,٠٠٥ مل بول ...

تُفرش الأخيذة جيداً على كامل سطح الغراء ، لتحقيق استفراغ وعزل جيدين ، وبالتالي لنتمكن من عدّ المستعمرات النامية بدقة كافية ، ثم تضاعف النتيجة بما يناسب لإكمال الحجم المحدود لـ ١ مل بول (١٠٠ × بالغانة الأولى ، و ٢٠٠ × بالغانة الثانية) .

ج - الاختبار الكمي : وهو الاختبار الدقيق ، وتُحضّر فيه تمديدات دقيقة لعينة البول بالماء المقطر المعقّم أو بالمحلول الملحي الغريزي المعقم ، وباستعمال محصات وجملة أنابيب عقيمة ، ونحضر تمديدات للبول ١٠٠ : ١ أو ١٠٠٠ : ١ حسب كثافة الجرثوم بالعينة ، ثم نفرش بالزرع ٠,١ مل أو ١ مل بول ممدّد على كامل الغراء ونحضر ؛ ومن ثم نقوم بعدّ المستعمرات النامية مع مضاعفة الرقم الناتج حسب نسبة التمديد المجراة ، ونحيط نحصل في النهاية على عدد المستعمرات الجرثومية في ١ مل بول كامل أصلي .

ملاحظة : يفضل لتسهيل عدّ المستعمرات استخدام علب بترى واسعة القطر ، ومخططة من قعرها أو نقوم نحن بتخطيطها بدقة .

- الجراثيم التي يمكن عزلها من السيل البولي :

الأنتر وباكت (الأمعائية) - الكليسييلة - المتقلبات - الإشريكيات

القولونية - العقديات الحالة للدم B - العنقوديات الممرضة - السيراتية -
الزوائف (مع وجود سوابق قصة قنطرة بولية أو مداخلات آلية بولية لتنظيف
الإحليل أو المثانة أو أخذ خزعات . .) - الناسيرات البنية - المتفطرات
السلبية - وغيرها . .

• علماً أن الأخماج البولية بسلبيات الغرام تفوق نسبتها كثيراً تلك التي تسببها
إيجابيات الغرام (حوالي ١/٩) .

• وأن الأخماج البولية عند الإناث أكثر منها عند الذكور (١/٢ أو ١/٣) .

عينات القيح والنتحات القيحية

Pus, and Purulent Discharge

(خَرَاجَات ظاهرة أو مستبطنة، سيلان أذن وسطى، دمامل الجلد والبثور الجلدية، الجروح أو الكسور المقيحة، العضّات المتقيحة، مفرزات نواسير نازّة عظمية أو جلدية، أخماج النسيج الخلوي تحت الجلد، مسحات المهبل وعُنق الرحم المتقيحة: أي * الضائعات المهليّة القيحية).

*** اعتبارات عامة :**

يجب أخذ العينات دون تماسها مع أية مادة صادّة كالمراهم أو المحاليل المطهرة، وكذلك تجنب تلوث القيح بالجلد المحيط أو بالأشعار المحيطة. . . وبالجملّة: يجب الحصول على القيح الصرف العبيط المُستَكَنّ داخلاً دون أية معاملة له أو تلوّث :

- نتأكد دائماً فيما إذا تناول المريض صادات حيوية منذ ٣ - ٧ أيام قبل إجراء الزرع، فهذا قد يؤجل الزرع لأيام.

- نتنبه دائماً في كل حركة أثناء أخذ العينات، حتى لا نلوث الغانة أو الماسحة بالجلد المحيط أو بالأشعار المحيطة. .

أخذ العينات :

- في القيح المستبطن العميق، يمكن للطبيب الجراح رشف القيح بمحقنة نَبْوَرة Disposable - ثم إجراء الزرع بعد ثذ مباشرة.

- إذا كان القيح سطحيّاً (جرح كبير - فوهة ناسور - بثرة. .) فيمكن

أن نأخذ عينة القيق بالمختبر بهاسحة معقمة نظامية أو بالغانة المعقمة، ومن ثم نزرع مباشرة على الأوساط المهيأة.

- دائماً نفضّل إجراء عصر لطيف ومديد لشَفَقِيّ الجرح أو فوهة الناسور لاستخراج القيق الصرف العبيط المستكن داخلاً.

- قد نؤجل لعدة ساعات أخذ العينة، فيما إذا كان القيق قد رُشِف سابقاً للتنظيف، أو في حالة لم نتمكن فيها من الحصول على القيق العبيط المطلوب.

معاملة العينات :

- يفضل دائماً تحضير لطاخات غرام من القيق، أولطاخات بالتلوين المقاوم للحمض أو بزرقة الميثيلين، حسب الطلب، إذ أن التلوين عامل هام لبدء المعالجة الأولية للمريض ريثما ينتهي الزرع مع التحسس الجرثومي (٤٨ - ٧٢ ساعة).

- تؤخذ عينة قيق نظامية أخرى، ونزرع على الأوساط التالية :

أنبوب ثيوغليكولات - علبه غراء مدمى بالتلثيم وأخرى بالصب -
غراء شوكلاتي - غراء ناخب لسليبات الغرام - ومُحضن الجَمْعُ بجوزائد الـ CO2.

- كما ونستخدم أوساطاً أخرى خاصة عند الطلب، كوسط لعزل البنيّات - ووسط لعصيات السل - أوساط الزرع اللا هوائي .
- يُعَلَم الطبيب مباشرة بتقرير جرثومي أولي عن نتيجة تلوين

اللطاحة القيقحية المباشرة (مثلاً: عصيات سلبية الغرام - أغصان فطرية مع خلايا فطرية متبرعمة تُرجع فيها الإصابة بالمبيضات البيض - مزدوجات سلبية الغرام داخل الخلايا وخارجها - عصيات مقاومة للحمض بكميات قليلة . .) مع ذكر الموجودات الأخرى (الكريات البيضاء ونوعها، الفطور، الطفيليات . .).

أهم الجراثيم المعزولة :

العنقوديات الممرضة (إيجابية المختراز والمانيتول) - العقديات المقيحة (زمرة A غالباً) العقديات الرئوية - العصيات القولونية الشكل Coliforms - المتقلبات - الزوائف (خاصة من قيع الأذن أو الجروح الملوثة) - المستدميات - المطثيات (في الحروق والجروح الملوثة المتهتكة) - المكورات اللاهوائية . .

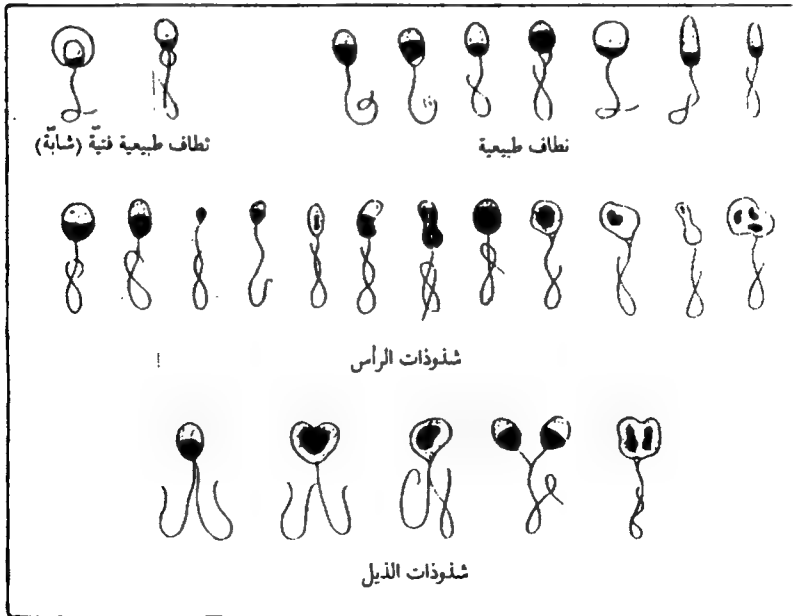
عينات المني

Semen

* اعتبارات عامة :

يتكون المني من :

- ١ - النطف، ومصدرها خلايا أنابيب الخصية .
- ٢ - المَصَوْرَة المَنَوِيَّة ، وتُفرز أساساً من غدة الموثة Prostat والحويصلين المنويين ، وبدرجة أقل من الغدد البصلية الإحليلية والبربخ .
- ٣ - الخلايا التوسفية ، وتفرز من الغدد الملحقة بالجهاز التناسلي ومن الأقنية المفرغة . (ر: تحليل البول والسوائل الحيوية في الجزء التالي) .



الشكل (٣) أشكال النطف الطبيعية ، وشذوذاتها الشائعة :

- يُستطب إجراء تحليل السائل المنوي Spermogram أساسياً لمعرفة مدى قابلية الرجل لإنجاب الذرية ؛ وكذلك لتحري وجود الكريات البيضاء بغزارة (خمج) أو الكريات الحمراء (نزف)، وكذلك لإجراء عيار سكر الفواكه Fructose الذي يعكس مدى فعالية التستوسترون . (ر: في الجزء التالي عن تحليل البول والسوائل الحيوية).

- يستطب إجراء زرع المني لتحري الأخماج الجرثومية المختلفة المنوالية، أو السلية في الجهاز التناسلي عند الرجال.

شروط أخذ العينة :

يجب أن يتم إنزال الدفق المنوي دون جماع قطعاً لئلا تختلط العينة مع مفرزات المهبل وما حوله ، وذلك بعد تطهير صمّاخ الإحليل بالماء والصابون أو بمطهر لطيف مناسب ، ونعطي المريض وعاء عقيماً واسع الفوهة حتى تقذف كامل العينة داخله دون ضياع .

زرع المني :

يزرع السائل المنوي حال وصوله بعد مزجه جيداً ، على الأوساط التالية: آغار ثاير - مارتين T.M - آغار شوكولاتي - آغار مدمى - أنبوب ثيوغليكولات .

يُحضن الجَمْع بالدرجة ٣٧° م بجوزائد الـ CO₂ (٥٪) كما قد تحضن علبة آغار مدمى أخرى بجو لا هوائي .

- من الممكن إجراء لطاخات للتلوين بملون غرام للتحري عن البُنَيَات أو الليسترية المستوحدة *Listeria Monocytogens* (أو بزرقه الميتلين)، كما قد نستخدم آغار سابورو- دكستروز إذا شك بمسؤولية الفطور عن الخمج، وأوساط السل لعزل المتفطرات السلية إن لزم الأمر. (قد نقوم بتفيل عينة السائل للتحريات الجرثومية باللطاخات والزرع).
- إن الأوساط الجرثومية المنوالية التي ذكرت سابقاً يمكن استخدامها كذلك في زرع العينات الإحليلية والموتية (بعد تمسيد البروستات) وعينات عنق الرحم. (رَ: أخماج الإحليل بعد قليل).

الجراثيم المعزولة :

المزدوجات البُنَيَّة - العنقوديات - العقديات - أحياناً عصيات سلبية الغرام كالأنتر وياكتر أو الكليسييلة - عصيات السل . . .

عينات خمج الإحليل

Urethral Discharge

* مدخل سريري جرثومي :

الإحليل هو القناة الأخيرة السفلية من الجهاز البولي ويمتد من فوهة المثانة وحتى الصِّاخ. يكون خمج الإحليل بشكل «خمج إحليلي سيلاني» Gonorrheal وهو الذي يترافق بنتحة قيجية غزيرة عفوية، أو بشكل «لا سيلاني» يتميز بنتحة فقيرة لا تظهر إلا بتمسيد الإحليل وعصره. إن الجزء الأخير من الإحليل - وهو الفوهة الظاهرة - يسمى بـ «صِّاخ الإحليل» Urethral meatus وستعترض لأخماج الإحليل وأسبابها عند الذكور والإناث مع خطوات تشخيصها.

أ - خمج الإحليل عند الذكور:

وأسبابه الرئيسية ثلاثة :

١ - المزدوجات البنية : Gonococcus وتسبب بإصابتها الحادة للإحليل سيلاناً قيجياً غزيراً، حليياً، أو حليياً مخضراً، يترافق مع عُسرة بُول وتعدد بيلات مع حسّ حرقه شديدة مؤلمة، وضجر؛ ويُلاحظ وجود سوابق ممارسة جنسية غير شرعية ولولمة واحدة. تسمى الإصابة الإحليلية بالبُنَيَات بـ: السيلان أو التعقية، وكافة الإصابات الجنسية التي تنتقل عن طريق الممارسات غير الشرعية تسمى بالأمراض الزهرية Venereal Diseases

- قد تتناول الإصابة عند الذكور: الإحليل والقناة الشرجية - والموثة « البروستات » وقد تتسبب باختلاطاتها إلى البربخ والأسهر (القناة المنوية الخارجة من الخصية) وغيرها، وهذا ما يفسر الإصابة بالعقم عند مرتكبيها بسبب انسداد الأوعية .

التشخيص الجرثومي للسيلان بالبنيات :

أ - اللطاخة المباشرة الملونة بتلوين غرام، أو بزرق الميثيلين : وهي أوضح عادة : ونلاحظ في اللطاخة كريات قبيحة غزيرة وقد غرّتها مزدوجات سلبية غرام «أي ضمن الكريات والخلايا» مع خلايا توسفية وكريات حمراء، ونشاهد أيضاً مزدوجات خارج الخلايا كل منها على شكل حبة البن أو الكلية .

ب - الزرع : قد لا يُجرى في الإصابة الحادة الحديثة، ويتم زرع النجيج الإحليلي مباشرة على أوساط عزل البنيات (غراء شوكلاتي - وسط T.M) وتكون النتيجة إيجابية بنمو: مستعمرات نقطية، بيضاء رمادية مدورة، محيطها قد يكون غير منتظم، يزداد قطرها بعد ٢ - ٣ أيام لتغدو أكثر لزوجة وحجماً، ويمكن إجراء لطاخات ملونة للتأكد منها .

ج - إيجابية الأوكسيداز: (ر: بحث الأوساط والطرق) وهو يجري على المستعمرات النامية .

٢ - المتدثرات (الكلاميديا) : Chlamydia

وهي تسبب حوالي ٤٠ - ٥٠٪ من حالات خمج الإحليل السلا سيلاني، وهي لا تنمو على المستنبتات الجرثومية، وإصابتها قد تكون زهرية. (ر: الباب الثالث - الفصل الثالث).

- التشخيص الجرثومي:

أ - بالفحص المباشر: نشاهد كريات بيض قيحية دون وجود جراثيم ولا مُشعرات ولا فطور، من نتحة إحليلية لا تنبثق إلا بالتسديد والعُصر.

ب - الزرع الجرثومي: سلبي.

٣ - المُشعرات المهبلية : Trichomonas Vaginalis

وهي أيضاً تنتقل بالممارسات غير الشرعية مع شريك مصاب، وتسبب خمج الإحليل السيلاني أو اللا سيلاني.

- التشخيص الحيوي: على المفرزات الإحليلية أو الدفعة الأولى (٥ مل) من البيلة الصباحية الأولى.

أ - بالفحص المباشر العيىط: يلاحظ وجود كريات بيض قيحية وكريات حمراء، مع كمية من الخلايا التوسفية، مع وجود طفيليات وحيدات خلية ذات سياط متحركة (طازجة) أو غير متحركة (قديمة) بحجم أكبر من الكرية البيضاء عادة منع ظهور حركة الغشاء المتموج (ر: الطفيليات الطبية الجزء الأول).

ب - الزرع: إيجابي (بمشاركة جرثومية)، أو سلبي عقيم (إصابة أميلية فقط دون مشاركة).

ب - خمج الإحليل عند الإناث :

تشمل الإصابة عندهن عادة الإحليل والمهبل وعنق الرحم، مما يسبب ظهور «الضائعات المهبليّة» وهي مفرزات مرضية تختلف عن المفرزات المخاطية الطبيعية، بلونها ورائحتها وتركيبها والأعراض المرافقة لها؛ تنسب الضائعات المهبليّة الخمجية رئيساً عن :

١ - المزدوجات البنيّة :

بالعدوى من شريك مصاب، والضائعات هنا قيحية، وقد تكون مدماةً أيضاً، وعند عصر عنق الرحم بالمنظار، تخرج نتحة قيحية هي المفضلة للتشخيص الجرثومي سواء بالفحص المباشر مع التلوين أو بالزرع على أوساط عزل البنيات .

يسبب خمج البنيات عند النساء سيلاناً حاداً، و يترافق مع عسرة تبول وتعدد بيلات وزيادة في الضائعات المهبليّة مع زحير شرجي مستقيمي (حس كبسة)، وتشمل الإصابة بالمزدوجات البنية عندهن : الإحليل - باطن عنق الرحم - غدة بارتولين - القناة الشرجية - وقد يتهادى الخمج باختلاطاته ليشمل البوقين والملحقات والحوض وغيرها . . .

أما الشكل المزمن فيكون لا عرضياً، وهكذا تصبح المصابة «مستودعاً» لتوزيع البنيات لكل من يقترب مباشرة دون أن تظهر عليها علامات السيلان . لكن الإصابة عندها قد يتهادى لتسبب انسداد البوقين وربما أدى إلى العقم .

٢ - المُشَعَّرَات المَهْلِيَّة:

وتسبب ضائعات مَهْلِيَّة قيحية غزيرة، رُغوية، كريهة الرائحة، تترافق مع حس حرق، وشد أسفل البطن، وبالفحص المباشر للضائعات تظهر طفيليات وحيدات الخلية المتحركة بسياطها مع كريات بيضاء وحمراء. (ر: الطفيليات الطبية - الجزء الأول).

٣ - المبيضات البيض:

وتسبب ضائعات مَهْلِيَّة كثيفة لزجة، مع قطع لبنية الشكل، وعند فحصها نلاحظ إحتوائها على خيوط فطرية وخلايا فطرية متبرعمة مع خلايا ظهارية وكريات معتدلة. و يترافق ذلك مع حكة فرجية شديدة عادة، واحمرار المنطقة. تنمو المبيضات على أوساط زرع الفطور (سابورو) فيما إذا طلب لها الزرع الخاص.

٤ - الحُمَات الراشحة:

وتسبب الحُلا البسيط الذي يتظاهر بتقرحات عنق الرحم؛ وطبعاً لا تنمو الحُمَات على أوساط الزرع الجرثومية. (ر: الباب الثالث - الفصل الأول).

٥ - وقد تشارك بعض المتدثرات (الكلاميديا) أو المفطورات (الميكوبلاسما) بذلك مسببة شكلاً من أشكال التهاب المهبل اللا نوعي، وهي لا تنمو على الأوساط الجرثومية العادية. (ر: الباب الثالث)

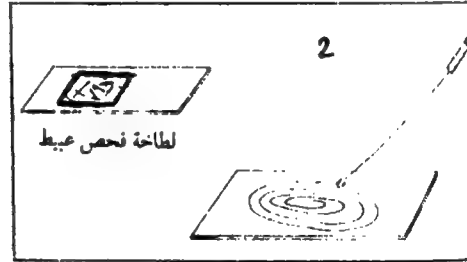
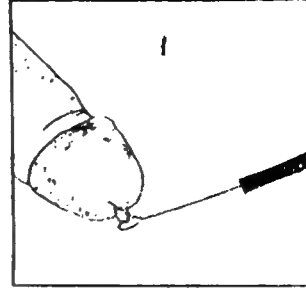
أخذ النموذج من الرجل

الأفضل أن يؤخذ النموذج في الصباح الباكر، قبل أن يبول المريض. ويُنظف صمّاعُ الإحليل حين اللزوم بواسطة قطنية مُبلّلة بمحلول كلوريد الصوديوم المعقم.

يُضغَط ضغطاً خفيفاً على القضيب بحيث تخرج من الصمّاع قطرة من القيح.

يؤخذ القيح بقائفة مُعقّمة أو يوضع مباشرة على شريحة نظيفة.

إذا لم يظهر قيحٌ تُدخّل القائفة المعقّمة حوالي 2.5 سم في داخل قناة الإحليل للحصول على النموذج.



لطاخة للتلوين

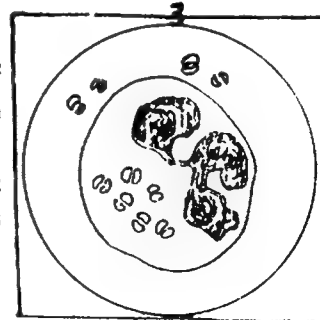
تُحضّر لطاحتان بحيث:

- تكونان أرقّ ما يُمكن

- تفرش إحداها على أكبر مساحة ممكنة ثم تُلَوَّر

- والثانية تغطى بساترة للفحص العيطة المباشر.

لطاخة فحص عيطة



تُعملُ لطاعات من قيح الإحليل وتُلَوَّن وتُلوَّن غرام. يمكن التعرف على المكورات البنية بثلاث خصائص وهي:

1. مكورات مزدوجة كحبيتي البنّ (أزواج)

2. سلبية الغرام

3. داخل الخلايا (داخل الكريات البيض).

الشكل (٤) أخذ عينات النجيج الإحليل عند الرجل، ومعاملتها.

* أخذ العينات وفحصها :

في خنج الاحليل عند الرجال يوصى المريض بالمجيء إلى المختبر صباحاً بُعيد الاستيقاظ مباشرة، وقبل أن يبول، حتى لا تنجرف المفرزات الاحليلية مع البول، ونصراً على هذا الشرط أكثر كلما قُلَّت المفرزات، أما في حال الخمج السيلاني الغزير فلا يُشترط ذلك. ينظف الصباخ أو يمسح بمطهر مناسب، ثم يقوم المريض بتمسيد الإحليل وعصره بدءاً من جانبيه إلى الفوهة، وحالما تخرج المفرزات نأخذ من وسطها - لتجنب التلوث - بواسطة الغائنة المعقمة.

أما عند النساء فيفضل أن يأخذ العينة الاختصاصي النسائي بنفسه، إذ تفضل عينة باطن عنق الرحم المأخوذة على ماسحة مبللة بوسط تكثير ملائم، وقد تؤخذ العينة عندهن أيضاً من صباخ الاحليل بعد عصره تؤخذ العينات على عدة مرات ليُجرى عليها عدة فحوصات كما يلي :

١ - الفحص العييط :

يفضل استحلاب الأخيذة اللزجة بقطرة معقمة من المحلول الملحي الغريزي، ثم تغطى بساترة، ويفحص المحضر مباشرة. ونلاحظ فيه وجود: المُشَعَّرَات المَهْبِلِيَّة وحركتها - الخيوط الفطرية والخلايا الفطرية - الكريات البيض المعتدلة والكريات الحمر - الخلايا التوسفية، مع إعطاء تقدير عن كمية كل منها حال وجوده (ر: كتابة التقرير الجرثومي).

٢ - الفحص مع التلوين :

ويجرى عادة تلوين غرام ، وقد يفضل عليه التلوين بزرقة الميتيلين للوفلر، وذلك بعد تحضير اللطاخة بشكل نظامي كالعادة، (ر: القسم الأول)، وعند ظهور مزدوجات سلبية الغرام داخل الخلايا فإن هذا يُعد مميّزا للخمج البني الحاد، أما في الخمج المزمن فقد لا تُكشف البنيات باللطاخة المباشرة، ولا بد عندها من إجراء الزرع الجرثومي الذي يُظهر وجود البنيات مع جراثيم مشاركة أخرى كالمكورات العنقودية، والتي تساهم في تعنيد الآفة على العلاج وإزالتها

• تظهر المزدوجات البنية داخل هيولى الخلايا القيقية

Intracellular Diplococcus بل حتى داخل بعض الخلايا التوسفية، (غزو خلوي يعلل تعنيدها على العلاج وإزالتها ونكسها)، كما وتظهر في الخمج الحاد - وربما في المزمن - مزدوجات خارج الخلايا Extrecellular Diplococcus وتكون كل مزدوجتين على شكل حبتى فاصولياء (كليتين) متقابلتين قطر كل منها ٠,٦ ← ١ ميكرومتر، منها الملونة بشدة ومنها الشاحب، ويمكن تأكيد التشخيص عند وجود الامكانات بتطبيق اختبار الأوكسيداز والتلوين المباشر بالأضداد النوعية المتألقة على اللطاخة (التألق المناعي المباشر واللامباشر في مبحث المناعيات).

٣ - الزرع الجرثومي :

ويتم الزرع على : مرق مكشر، آغار ثاير مارتين T.M المُدْفَأ لحرارة الغرفة، والحاوي على مثبطات للجراثيم الأخرى لإتاحة المجال لنمو

المزدوجات، ومن الممكن استعمال الآغار المدمى المدفأ أو الآغار الشوكولاتي المدفأ أيضاً، ويتم الحضان بجوزائد الـ CO₂، وقد نمدد الفترة حتى ٤٨ ساعة لإظهار النمو بوضوح.

تنمو مستعمرات المزدوجات بقطر صغير وحتى ٣ ملم، مرتفعة قليلاً، رمادية اللون قائمة، ومخاطية مطاطية تصعب تجزئتها، وقد تكون شفافة مع حواف غير منتظمة، وبعض منها يظهر خاصة الانهضام الذاتي في المركز، إيجابية الأوكسيداز، وبالتلون تظهر مزدوجات سلبية غرام.

* ملاحظات :

* قد يكفي الفحص المباشر لتشخيص خمج الإحليل السيلاني الحاد، ولكن لا بد من إضافة الزرع الجرثومي لتشخيص الشكل اللا سيلاني والشكل المزمّن للخمج الذي قد يترافق مع جراثيم مشاركة أخرى.

* عند كشف المزدوجات بالفحص المباشر، يفضل دعم التشخيص بعزلها بالزرع الجرثومي أيضاً، وذلك لاستبعاد الإيجابيات الكاذبة، إذ قد تلتبس مع المزدوجات البنية بالفحص المباشر كل من: العُصُورَات سلبية الغرام (العصيات الصغيرة المكورة) - النايسيريات النزلية - أشباه الخانوقيات - المكورات العقدية والعنقودية التي فقدت لونها.

* في الحالات الحادة الحاوية على المزدوجات البنية لوحدها دون مشاركة معها، لا حاجة لإجراء التحسس الجرثومي، ويكفي الفحص المباشر الإيجابي لوحده لوضع التشخيص وتحديد المعالجة.

عينات البراز وزرعها

Stool cultur

* اعتبارات عامة :

يجوي البراز على نبيت جرثومي كثيف ومتنوع، بل إن جزءاً هاماً من كتلة البراز تتشكل من الأحياء الدقيقة، إذ يجوي غرام واحد من البراز على ٨١٠ - ١٠١٠ جرثومة، وهذا ما يضطرنا لاستخدام أوساط مثبطة بقوة لإحيائيات الغرام ومعظم سلبيات الغرام، وذلك لإتاحة الفرصة لعزل الجراثيم الممرضة فيه، والتي تشكل السلمونيلة ثم الشيغلة العاملان الأهم في بلادنا (ر: الزمرة الجرثومية الطبيعية في القولون والأعور - القسم الأول - الباب الأول).

- يستطب زرع البراز في حالات معدودة منها :

١ - الإسهالات الجرثومية المعنّدة على العلاج :

خاصة عند الأطفال، ونستطيع تصنيف أهم العوامل الممرضة كما

يلي :

- * العوامل الشائعة : السلمونيلة (وخاصة في بلادنا) - الشيغلة - الحمات
- الراشحة المعوية Enterovirus - الطفيليات : الزحار - الجيارديا اللامبيليا .
- (ر: الطفيليات الطبية الجزء الأول من هذه السلسلة).
- * العوامل الأقل شيوعاً : العقنوديات الذهبية - الإشريكيات القولونية السامة للأمعاء E.T.E.C - المطثيات .

* العوامل غير الشائعة ولكنها هامة : الزوائف - الهيفضة بأنواعها (الكوليرا)
- المنحنيات *Campylobacter* .

ونؤكد هنا على أن خمج السبيل الهضمي قد يكون بسبب جراثيم ممرضة، أو حُمات راشحة، أو طفيليات ممرضة (جيارديا لامبليا - المتحول الزحاري الحال للنسج - الديدان بأنواعها . .) أو فطوراً (كالمبيضات البيض)، وهذا ما يدلنا على ضرورة إجراء فحص البراز العياني والمجهري لكل عينة زرع. (ر: الطفيليات الطبية - الجزء الأول).

٢ - الإنسمامات الغذائية :

وعاملها الممرض الجرثوم ذاته، أو ذوفاناته *Toxins* ، وهذا الاستطباب قليل الأهمية في الممارسة الطبية العامة، ولعله ينحصر في المختبرات الرسمية للصحة العامة والأغذية .

ونذكر من الجراثيم التي قد تسبب انسماماً غذائياً : السلمونيلة - الشيغلة - العنقوديات - المطثيات .

٣ - تحري حالات «الحَمَلَة» : *Carriers*

وهم الأشخاص الذين يحملون جرثوماً ممرضاً دون أن تظهر عليهم أعراض المرض . تقع السلمونيلة عادة في الحويصل الصفراوي عند الحَمَلَة (وَلَوْعَة بالصفراء)، وتنطلق بدفقات مع البراز لتسبب العدوى من شخص لآخر .

تُجرى زرع الحملة عند عمال المطاعم والمخابز وبائعي العرقسوس في الشوارع والمحال .
العينة :

يوضع البراز في إناء نظيف وشفاف ويفضل أن يكون معقماً (أشكال جاهزة) ، مع تجنب تلوثه بالبول خاصة عند الأطفال والمقعدين ؛ أما في حال الشك بالشيغلة فيفضل إجراء مسحة شرجية بعد تنظيف المنطقة جيداً ، وباستعمال ماسحات قطنية معقمة جاهزة لهذا الغرض ؛ يجب إجراء الفحص العياني والمجهري لكل عينة زرع براز ، ونحدّد في ذلك الفحص المعلومات التالية :

- * قوام البراز : سائل مائع - لين عجيني - عادي - قاسي . .
- * اللون : مدمى - أسود زفتي - أبيض حوّاري . .
- * وجود الأجزاء المرضية المرافقة : قيح - مخاط - دم - قطع ديدان - ديدان كهلة - حبيبات بيضاء تشبه الأرز في براز مائي «الاسهال الرّزّي» .
- * وبالمجهر نلاحظ وجود الطفيليات الممرضة أحياناً ومتحولات ، وبيوضاً ويرقات ، مع ملاحظة وجود الكريات الحمراء إن أمكن ، والكريات البيضاء التي تدل على حدوث غزو لمخاطية الأمعاء من قبل العامل الممرض أو على تحريش لها أو تنخر فيها (راجع الجزء الأول عن الطفيليات وفحص البراز من هذه السلسلة) .

العمل :

- لا يجوز حفظ عينة البراز بالبراد أو بالمحضنة ، بل يجب مباشرة العمل بها حال إخراجها ، فنختار الأجزاء المشبوهة الحاوية على المخاط أو القيح أو الدم للزرع الجرثومي وللفحوصات المباشرة .

- يستطب إجراء لطاخات مباشرة للبراز بتلوين غرام في حال الشك بأي مما يلي : العنقوديات - المبيضات البيض - الضّمات أو المنحنيات (راجع طريقة غرام) .

الزرع :

لتحقيق الهدف الأصلي من زرع البراز وهو عزل الجراثيم الممرضة (السلمونية ثم الشيغلة) من بين خليط جرثومي كثيف ومتنوع ، نقوم بالزرع على عدة مراحل كما يلي :

١ - الزرع البدئي : Primary culture

ونزرع أبخيدات نظامية من البراز الطازج على الأوساط التالية :

أ - مرق السيلينييت أو مرق الـ GN بشروطهم (راجع العمل في مبحث الأوساط والطرق - القسم الأول) .

ب - آغار ناخب شديد ينهي نمو إيجابيات الغرام وبعض سلبيات الغرام مثل : آغار S.S ، أو هيكتون Hektoen أو DCLS ، مع مراعاة الفرش الجيد على كامل سطح الآغار .

ج - آغار ناخب متوسط لسلبيات الغرام : مثل آغار ماكونكي ، لتمييز

مجموعة العصيات إيجابية اللاكتوز من زمرة العصيات القولونية الشكل Coliforms ، عن غيرها بوضوح أكبر ، وقد نستعمل بدلاً منه آغار الـ E.M.B أو آغار إندو، ونراعي هنا أيضاً تحقيق نشر جيد للأخيدة على كامل الآغار (ر: الأوساط والطرق: القسم الأول).

د - أوساط خاصة تضاف وفق الحاجة:

١ - آغار غول فينيل الإيتيل الدموي الذي يثبط نمو سلبيات الغرام ويسمح بنمو المكورات إيجابية الغرام وبعض الخمائر، ومن الممكن أن نستخدم الآغار المدمى أو آغار شابمان.

٢ - آغار الفطور مثل آغار Fungisel للمبيضات البيض.

٣ - في حال الشك بضمات الكوليرا: نزرع البراز على المرق الهضموني القلوي، ويحضان لمدة ٣ - ٧ ساعات، ثم يُنقل ثانية إلى أنبوب جديد من المرق الهضموني القلوي ويحضان لنفس المدة وربما نكرر للمرة الثالثة، ومن ثم نقل أخيدة منه إلى آغار TCBS قلوي (٩, ٨ = PH) فننمو عليه مستعمرات الكوليرا بلون أصفر وبحجم كبير واضح (من أعمال مخابر الصحة العامة والأوبئة)!

● نخضع الأوساط السابقة بالحرارة ٣٧° م ولمدة ١٤ - ١٨ ساعة، ومن ثم نلاحظ بدقة وأناة، وباستعمال مكبرة إن لزم، المستعمرات سلبية اللاكتوز (وما يهنا منها خاصة السلمونية ثم الشيغلة) ونتعامل معها كما في الزرع الثانوي، أما إيجابيات اللاكتوز، فتُهمل في الزرع المتوالية.

٢ - الزرع الثانوي : Secondary Cultur

نزرع أخيذاتٍ من طافي مرق السيلينيت (أو الـ GN) السابق على الأوساط التالية :

آغار S.S (أو هيكتون) - آغار ماكونكي (أو E.M.B أو إندو. . .) - وعند الشك بالسلمونيّة التيفية ينصح باستخدام آغار كبريتيت البزموت B.S (Bismuth Sulfite) أيضاً، إذ تنمو عليه مستعمرات السلمونيّة التيفية بلون أسود مع لمعة معدنية مميزة، في حين تنمو باقي السلمونيّلات على شكل مستعمرات سوداء دون لمعة، أو خضراء.

- وقد نضيف للمجموع السابق آغار :
(Xylose-lysine-Desoxycolat-A) XLD .

● نتعامل مع المستعمرات سلبية اللاكتوز لكشف السلمونيّة أو الشيغلة في بلادنا، وذلك بأن نزرع المستعمرة المشبوهة على وسط البولة-إندول، ونجري اختبار الحركة لها (معظم ذراري الشيغلة غير متحركة)، وقد نستخدم أوساطاً تفريقية أخرى كوسط KCN وسيمون سيرات - وكليغلر...

- نُحدث المتقلبات إيجابية البولاز بعد ٢ - ٤ ساعات، وإيجابية الإندول خلال ١٨ - ٢٤ ساعة من الزرع؛ في حين أن المستعمرات سلبية اللاكتوز والبولة والإندول مع ظهور عصيات متحركة ومُطلقة لكميات قليلة من H₂S أو غير مطلقة له، يوجهنا نحو وجود السلمونيّة؛ ونعزم بالتشخيص بتطبيق التميّط المصلي النوعي على مستعمرة معزولة طازجة (مصل عديد القُوَى

للسلمونيالات) (ر: التنميط المصلي، القسم الأول).

- أما إذا كان الجرثوم عصيات ثابتة، سلبى اللاكتوز والبولة والإندول ولا يطلق H_2S ، فنميل نحو الشيغلة، ونجزم بالتشخيص بتطبيق التنميط المصلي النوعي لذراري الشيغلة على مستعمرة معزولة طازجة (مصل عديد القوى للشيغلات).

- وعند معرفة نوع الجرثوم الممرض نجد له التحسس للمصادات الحيوية المتتقاة.

- وعموماً نختار أوساط الزرع بما يتناسب مع الجرثوم المشكوك به، وقد لا نحصل على نتيجة أكيدة، فنلجأ لتكرار الزرع.

١ - لاحظ أنه في الزرع البدئي أخذنا الأخيذات من البراز مباشرة، وفي الزرع الثانوي من طافي السيلينيت.

٢ - لاحظ أننا نستغرق من ٢ - ٤ أيام للحصول على تقرير زرع البراز مع التحسس.

زراع الدم Blood cultur

* إعتبارات عامة :

هناك العديد من العُصَيَّات التي تسبب تَجَرُّثاً دُمَوياً، ويبقى زرع الدم الوسيلة الفُضلى : لعزل الجرثوم الممرس، ولمعرفة نموذج تحسسه للصادات الحيوية الملائمة، وتصل إيجابية زرع الدم بشروطه النظامية إلى حوالي ٩٠٪ من الحالات. غير أن شروطه دقيقة ومُكَلِّفة، ومدته طويلة وهذا ما يخفض من إيجابيته في بلادنا للأسف.

- دم الإنسان محفوظ بإمكانيات فعالة لإزالة الجراثيم منه بسرعة، سواء بوجود الخلايا البالعة بأنواعها، أو بالأضداد النوعية، مع العوامل المناعية والحيوية الأخرى المتنوعة، لذلك نلاحظ أن الجرثوم الذي نريد عزله من الدم يكون مُنْهَكاً ضَنْكاً، وقليل العدد، وهذا ما ينعكس على اختيار الأوساط الزرعية التي يجب أن نستخدمها لهذا الغرض، وسنلاحظ معاً أنها أوساط غنية بإمكاناتها للإنباء، ومتعددة، والحجوم كبيرة، مع كميات دم كبيرة للزرع عليها، كما أننا نحضن الزروع لفترات طويلة : أي أننا نقدم كل فرصة ممكنة لإتاحة النمو والتكاثر للجرثوم المعزول، كما ونوعاً.

- يحدث تجرُّث الدم Septicemia بشكله المستمر في حالات سريرية خاصة، كما هو الحال : في التهاب شَغَاف القلب الحاد بالعُقديات، وعندها

تُهيمن على المريض أعراض تجرثم الدم السريرية . أما تجرثم الدم المؤقت فهو الأكثر شيوعاً في سياق الأبحاث، إذ قد يحدث ذلك خلال سير أي خمج جرثومي لبؤرة ما في الجسم، مثل: التهاب اللوزات القيحي الحاد - ذات الرئة الجرثومية الحادة - الطور البدئي من الحمى التيفية - عصر دمل غير ناضج - التهاب الأذن الوسطى القيحي الحاد . . . وعندما تنفلت دفعة من العصبية الحية إلى مجرى الدم من بؤرة مخموجة ما، فإن المريض قد يعاني من الحمى والعرواءات، وعادة ما يتأخر ظهورها لفترة ٣٠ - ٦٠ دقيقة، وأثناء هذه الفترة يحدث الصراع ويُزال الجرثوم من الدم الجائل، وهكذا: فقد يكون زرع الدم أثناء الحمى أو العرواء سلبياً، وهذا ما يدلنا على أهمية اختيار الوقت الملائم عند سحب عينة الزرع .

- نستخدم لقطف عينات الدم، المحاقن والإبر النبوزة Disposable Syringes ويجب أن لا نستخدم غيرها . تُدقأ أوساط الزرع بالدرجة ٣٧°م قبل زرعها، ثم يسحب الدم من أحد أوردة الحفرة المرفقية عادة ويفضل الوريد القاعدي ويجب أن تشكل كمية الدم المسحوبة ما مجموعه حوالي ١٠٪ من كمية أوساط الزرع مجمعة .

- نتحرى قطف عينة الدم قبيل ارتفاع الحرارة أو حدوث العرواء المتوقعين ما أمكن ذلك، ونسحب ٣ - ٤ عينات للزرع بفاصلة ٢ إلى ٤ ساعات بين العينة والأخرى وبشكل عقيم تماماً، ونعيد التأكيد هنا على وجوب امتناع المريض عن تناول أية أدوية مؤثرة على الجراثيم خلال ٧ - ١٠ أيام سابقة لقطف الدم على الأقل .

* الأوساط المستخدمة لزراعة الدم البدئي :

: وهي أوساط سائلة غنية عموماً، يُنتقى منها ٢ - ٣ أوساط وفق الحاجة، ونستخدم ٥٠ - ٧٠ - ١٥٠ مل من كل منها على الأقل كوسط للزراعة، ويضاف الدم لها بنسبة ١٠٪ لكل وسط زرعى، وهي :

١ - المرق المغذي مع الغلوكوز أو مرق التريكانز - صويا (يحوي الببتون مع فول الصويا) وقد يضاف إليهما مانع للتخثر، وهما وسطان غنيان، ويدعمان نمو أغلب الجراثيم الهوائية الشائعة في الأمراض.

٢ - مرق التيوغليكولات : للجراثيم الهوائية واللاهوائية، وقد لا تنمو عليه - كما لوحظ - الجراثيم التالية : الزوائف - النيسيريات - مجبات الدم.

٣ - عند الشك بسلبيات الغرام وخاصة منها عائلة الأمعائيات (ومنها السلمونيلا)، يفضل استخدام وسط ماكونكي السائل (يحوي الصفراء).

* العمل :

- يجب أن يكون قطف العينة عقيماً كلياً، فنمسح الجلد فوق الوريد المطلوب بصبغة اليود (اليود الغوّلي) وعند جفافها تماماً نعيد المسح ثانية بالغول ٩٥٪، نضع العاصبة Garrot على عضد المريض فوق الوريد بكفاية، ندخل الإبرة بالوضعية المناسبة النظامية داخل الوريد، ونسحب بلطف كمية من الدم تكفي لأوساط الزرع المراد استخدامها (عادة ١٠ - ٢٠ مل دم)، نُحل العاصبة ونسحب الإبرة بحركة واحدة سريعة، وتغطى

منطقة البزل بشاش جاف معقم مباشرة، نضيف الدم إلى أوساط الزرع بهدوء وأناة مع الحذر التام من حدوث أي تلوث، تمزج كافة الأوساط المزروعة بهدوء، وتخفض بالدرجة ٣٧°م مع جوزائيد من الـ CO2 .

- يفحص المرق صباحاً، كل يوم، وفي حال عدم وجود أي عكر يمزج الوسط ثانية كل يومين، أما عند ظهور أي عكر في طافي المرق، فإننا ننقل أخذات Subcultures منه بالغانة (أو بالزراقات المعقمة بالزرع اللاهوائية)، ونزرعها على الأوساط الصلبة التالية للتعرف على الجرثوم (الزرع الثانوي): آغار مدمى - آغار شوكلاتي - آغار ناخب لسليبات غرام (E.M.B أو ماكونكي) - أوساط خاصة أخرى وفق التوجه السريري والمختبري، . . . كما ننقل أخذات أخرى لتحضير لطاخات ملونة بطريقة غرام.

- وفق نتائج لطاخات غرام، نعلم الطبيب المعالج عن نتيجة الزرع البدئي بتقرير جرثومي أولي (نمو المكورات العنقودية - أو نمو مزدوجات سلبية غرام مثلاً) حتى قبل أن يتم التعرف الكامل، وذلك ليُصار إلى معالجة المريض مبدئياً ريثما تنتهي اختبارات التعرف والتحسس الدوائي.

- عند عدم حصول أي عكر، نمزج الأوساط كل يومين، ونستمر بالحضن لفترة تتراوح بين ١١ - ٢١ يوماً للسلمونيلا (عامل الحمى التيفية)، وقد نستمر لمدة ٣٠ يوماً للبروسيلات (عامل الحمى المالطية) حتى نستطيع الجزم بأن الزرع سلبي، وعند عزل الجرثوم الممرض والتعرف عليه نقوم بإجراء التحسس الدوائي للصادات المناسبة له.

* التقييم :

عادة ما يظهر الجرثوم الممرض ذاته في كافة أوساط الزرع المستخدمة أو في أغلبها، أما إذا ظهر النمو في زجاجة واحدة فقط دون الباقيات، فإن هذا قد يوجه نحو حدوث التلوث الخارجي وخاصة من مرحلة بزل عينة الدم.

* الجراثيم المعزولة من زرع الدم المرضية :

العنقوديات - جراثيم سلبية الغرام : وأهمها السلمونيلا التيفية والبروسيلة المالطية والإشريكييات القولونية - العقديات الحالة α والعقديات البرازية D (أو الهضمية) - العقديات الرئوية - النيسيريات السحائية - المطثيات الحاطمة . . . علماً أن هناك عصيات لا تنمو إلا بالزرع اللا هوائي هي : العقديات اللا هوائية - المطثيات - الفطور الشعاعية - العصوانيات .

ملاحظة :

قامت شركات الأوساط الجرثومية بتحضير مجموعة من الأوساط الجاهزة لزرع الدم ضمن زجاجات خاصة يتألف الوسط الزراعي لكل منها من قسمين : سائل «مرق» وصلب «آغار» معاً في نفس الزجاجاة المغلقة بسدادة «طاطية محكمة أوبجراين منفصلين» وهناك مجازة خاصة لقطف عينة الدم، قوامها من اللدائن الطرية المعقمة، تحوي رأس إبرة في كل قطب لها، لتصل مباشرة بين مجرى الدم لدى المريض وبين الوسط الزراعي الجاهز سلفاً، دون أي تماس للدم المقطوف مع الجو الخارجي .

هذه الأوساط بأنها تقدم لنا الجو الملائم للحضن الذي نختاره، وهو جو الزجاجة: كأن يكون جو الزجاجة خالٍ من الأوكسجين مطلقاً للزرع اللا هوائي، أو قليل الأوكسجين أو زائد الـ CO₂، كما أن هذه الأوساط سهلة الاستعمال وتقلل كثيراً من احتمال التلوث، ومشكلتها ارتفاع ثمنها واستيرادها جاهزة.

من أمثلة هذه الجمل الجاهزة:

- جملة كاستانيدا «Castañeda System» للكهول ولأطفال لمختلف

أنواع الزروع الهوائية واللاهوائية . . .

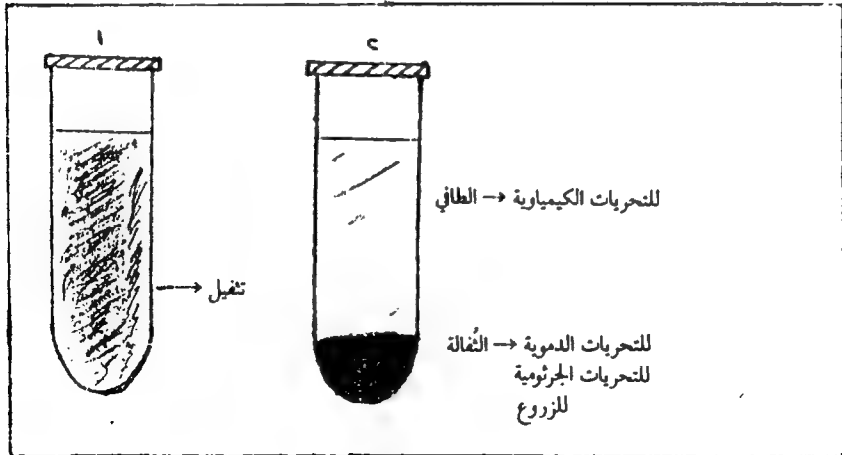
- جملة روش Roch . . . وغيرها كثير . . .

عينات السائل النخاعي وسوائل الأجواف المصلية

Cultur of Serous and Cerebrospinal Fluids

نقصد بسوائل الأجواف المصلية: سائل الجنب - سائل الحبن -
السائل المفصلي - سائل التأمور .

- تميل سوائل الأجواف المصلية نحو التخثر لاحتوائها على مولد
الليفين Fibrinogen ، لذلك يقوم المختبر بتحضير أنابيب معقمة ، ذات
أغطية ملولبة ، تحوي على مانع تخثر معقم (حماضات أو سيترات أو
هيبارين) ؛ وبعد بزل العينة بشكل عقيم ، تُسكب في الأنبوب ثم تمزج جيداً
مباشرة ، ثم تُثقل بسرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة لمدة ١٥ - ٢٠ دقيقة مِمَّنْ ثم :
- نستعمل السائل الطافي الناتج من تثفيل سوائل الأجواف المصلية أو



الشكل (٥): مخطط العمل لعينات السوائل الحيوية: عينة سائل حيوي في أنبوب معقم .

تفيل السائل النخاعي لإجراء المعايرة الكيميائية المطلوبة، أما الثفالة المركزة الناتجة فنستعملها للتحريات الدموية، وكذلك للتحريات الجرثومية (لطاخات مباشرة - زروع).

• تُجرى على السائل الحيوي الفحوصات التالية:

- أ - الفحص الفيزيائي: اللون - المظهر - اللزوجة - ال PH .
- ب - الفحص الكيميائي: سكر - آحين - خمائر - كلور . .
- ج - الفحص المجهرى الدموي: للكريات البيضاء والحمراء: (ر):
الجزء التالي عن تحليل البول والسوائل الحيوية).

د - الفحص الجرثومي: يجب مراعاة إنجاز فحوصات السائل النخاعي خاصة بالسرعة القصوى مخافة تلف الجراثيم الهشة Fragi المرضة فيه (السحائيات - الرثويات . .).

- من ثفالة السائل المبزول الناتجة نقوم بإجراء:

١ - اللطاخات الجرثومية: وتلّون بطريقة غرام أو بزرقة المتيلين أو بالتلوين المقاوم للحمض (تسيل نلسون أو كينيون) ويُعلم الطبيب مباشرة عن أي جرثوم يشاهد.

٢ - الزرع الجرثومي المنوالي: إذ تزرع الثفالة على الأوساط التالية: مرق التريبكاز صويا - مرق الثيوغليكولات - آغار T.M - آغار شوكلاتي - آغار مدمى - وسط ناخب لسليبات الغرام (E.M.B مثلاً).

- تُحضن الأوساط بجوزائد الـ CO₂ (٥ - ١٠٪) لمدة ٢٤ - ٧٢ ساعة لتحري نمو الجراثيم الهشة (كالنايسيريات والمستعفيات).

تضاف الأوساط الخاصة حسب فحص اللطاخة المباشرة أو بتوجيه لطبيب المعالج .

٣- الزرع السلي: عند الطلب، ونزرع من الثفالة على مرق 7H-9 ، وآغار لوفنشتاين جونسون المعدل، ونحضن لعدة أسابيع (ر: وسط لوفنشتاين جونسون القسم الأول).

الجراثيم المعزولة:

العُقديات - العُنقوديات - العقديات الرئوية -
النَّاسِيرِيَّات السَّحَائِيَّة والبُنِيَّة - الكليبيَّة - المُسْتَدِمَات النَّزْلِيَّة - بعض
الْفُطُور - المتفطرات السَّلِيَّة . . .

الباب الثاني

الفصل الأول : المعالجة الكيميائية المضادة للجراثيم :

الصادات الحيوية والسلفا : تصنيفها - آليات تأثيرها .

الفصل الثاني : اختبارات تحسس الجراثيم للصادات الحيوية وطرق إجرائها .

الفصل الأول

المعالجة الكيميائية المضادة للجراثيم

Antimicrobial Chemotherapy

مقدمة ومدخل :

في أواخر القرن الثامن عشر، أراد العالم الكيميائي الألماني بول إيرليخ في سياق تجاربه بالمختبر، البحث عن مواد كيميائية قادرة على تخريب العضيات الممرضة دون أن تؤذي خلايا الإنسان، وهذا هو المبدأ الأساسي في المعالجة الكيميائية، وبعد أبحاث طويلة وطويلة، وفي المحاولة رقم ٦٠٦ توصل إيرليخ إلى مركب زرنيخي فعال في علاج مرض الإفرنجي (السفلس) سمّاه بالمادة ٦٠٦، وهي نفسها مادة Salvarsan لعلاج الإفرنجي، وهذا ما شجع الكثيرين للتجربة والبحث في آلاف المواد الكيميائية علّ بعضها يظهر خواصاً مضادة للأحياء الدقيقة الممرضة . . .

في عام ١٩٢٨ لاحظ السير الكسندر فليمنغ S.A.Fleming أثناء تعامله مع مستعمرات للمكورات العقديّة أن جزءاً من تلك المستعمرات الذي تلوث بفطر العفن *Penicillium Notatum* قد توقف نموه، فسَمّى تلك المادة المضادة للجراثيم بـ «البنسيلين»، وبعد عدة تجارب ومحاولات متكررة تم الحصول على البنسيلين النقي للعلاج عام ١٩٤٢ خلال سني الحرب .

وفي عام ١٩٣٢ أعلن العالم الكيماوي الألماني جيرارد دوماج أن صبغة "البر وتوسيل الحمراء" مادة فعّالة لعلاج الكثير من الآفات الجرثومية وتبين فيما بعد أن هذه المادة تتحول في الجسم إلى مشتق لا لون له هو "السلفانيلاميد" Sulfanilamid وهو المادة الفعّالة المضادة للجراثيم .

ثم اكتشف الأكتينومايسين من الفطور الشعاعية الموجودة في التربة ، وسرعان ما ظهر الستر بتومايسين الفعّال في علاج العصبية السلية وغيرها ؛ ومن ثم تابعت سلسلة الإكتشافات على أيدي العلماء والأطباء هنا وهناك ، وترسّخ مع الزمن مفهوم المعالجة الكيماوية للعضيات الدقيقة Micro-organism ، تلك المعالجة التي تُحدث سمية نوعية ضد تلك العضيات دون أن تحدث ضرراً فادحاً في جسم المضيف (المريض) ، ومردّ هذه النوعية في السمية الخلوية وجود مستقبلات خاصة لتلك الأدوية الكيماوية على جدار الخلية الجرثومية ، في حين أننا لا نجد مثل تلك المستقبلات على جدار الخلية الإنسانية أو الحيوانية ، وهذا هو الفرق الرئيسي بين السلفوناميدات والصادات الحيوية من جهة وبين المطهرات من جهة مقابلة ، الأمر الذي يفسر لنا حصر استعمال المطهرات بالتطبيقات الخارجية فقط (١٠جلد) .

• فالصادات الحيوية إذن : هي عوامل كيماوية طبيعية (مثل البنسلين) أو تركيبية (مثل السلفا) أو نصف تركيبية (أمبيسلين) تمتاز بتأثير قاتل للجراثيم أو موقف لتكاثرها ونموها مع تأثيرات جانبية مقبولة عموماً على جسم المضيف .

• إن الصادّات الحيوية ومركبات السلفا غير فعّالة في أخماج الحماة الراشحة التنفسية والجلدية . . .

تصنيف العوامل الكيماوية المضادة للجراثيم :

يتم التصنيف وفق عدة معايير كما يلي :

أولاً - التصنيف وفق البنية الكيماوية (الزمر الدوائية) :

آ - زمرة البنسيلينات : أبسطها البنسلين ج بأنواعه -
الأمبيسيلين - الأموكسيسيلين - كاربنسيلين - كلوكساسيلين ودي
كلوكساسيلين (مقاومان لحميرة البنسيليناز العنقودية) . . .

ب - زمرة السيفالوسبورينات : مثل سيفالوثين - سيفالكسين -
سيفاردين - سيفالوريدين - سيفازولين . . .

ج - زمرة الأمينوغليكوزيدات : كاناميسين - جنتاميسين -
توبراميسين - سيزومييسين - أميكاسين - ستربتوميسين - نيوميسين . . .

د - زمرة التيترا سيكلينات : كلورتيتراسيكلين - أوكسي تيتراسيكلين
- دوكسي سيكلين . . .

هـ - زمرة الماكرولايدات : الإريثروميسين - لنكومايسين -
كلينداميسين . . .

و - زمرة متفرقة : كلورامفينيكول - البولي ميكسينات (الكوليستين)
- فانكوميسين . . .

ز - زمرة السلفوناميدات : بأنواعها مع الكوتريموكسازول . . .

ح - عوامل خاصة بالأخماج البولية : (وعادة ما تطبق على العصابات سلبية الغرام) ، الناير وفورانتوئين - ناليديكسيك أسيد - بيبي ميديك أسيد - الكوتريموكسازول - أوكسولينيك أسيد . . .

ط - العوامل المضادة للعصابات السلية : إيزونيازيد - إيثامبوتول - ريفامبيسين - P.A.S . . .

ي - العوامل المضادة للفطور : الأمفوتيريسين ب - النيساتين - الكريزوفولين . . .

ثانياً : التصنيف وفق التأثير القاتل للجراثيم أو الموقف للنمو :

أ - العوامل القاتلة للجراثيم : زمرة البنسيلينات - ز . السيفالوسبورينات - ز . الأمينوغليكوزيدات - الفانكوميسين - البولي ميكسين - ناير وفورانتوئين - الكوتريموكسازول . . .

ب - العوامل المثبطة لنمو الجراثيم : ز . التيراسيكلينات - ز . السلفوناميدات - الكورامفينيكول - ز . الماكرولايدات . . .

ثالثاً : التصنيف وفق التأثير على إيجابيات الغرام وسلبياته :

آ - الصادات المؤثرة على الجراثيم إيجابية الغرام (غالباً) : البنسيلين ج - كلوكساسيللين وأشباهه - ز . الماكرولايدات - سيراميسين - فانكوميسين . . .

ب - الصادات المؤثرة على الجراثيم سلبية الغرام (غالباً) : ز . الأمينوغليكوزيدات - بولي ميكسينات - ناير وفورانتوئين (بالبول) - ناليديكسيك أسيد (بالبول) - بيبي ميديك أسيد (بالبول) . . .

ج - الصادات موسعة الطيف (المشتركة): أميسيلين -
أموكسيسيلين - كاربنسيلين - ز. السيفالوسبورينات - ز. التيراسيكلينات -
الكلورامفينيكول - كوتريموكسازول . . ومن الممكن استخدام بعض أنواع
زمرة الأمينوغليكوزيدات أحياناً . . .

رابعاً: التصنيف وفق آلية التأثير على الجرثوم:

أ - الصادات التي تثبط تكوين الجدار الخلوي للخلية
الجرثومية: البنسيلينات - سيفالوسبورينات - فانكوميسين - نوفوبيوسين -
باستراسين . . .

ب - العوامل التي تعمل على تغيير نفوذية الغشاء الهولي: البولي
ميكسينات (الكوليستين) - نيساتين - الأمفوتيريسين ب . . .

ج - الصادات التي تعمل على تثبيط تركيب البروتين ضمن
الخلية: كلورامفينيكول - ز. التيراسيكلينات - ز. الأمينوغليكوزيدات -
المأكرولايدات - فوسيديك أسيد . . .

د - الصادات التي تعمل على تثبيط تركيب الحموض النووية:
ريفامبيسين - إيثامبوتول - ناليديكسيك أسيد - أكتينومايسين -
كريزوفولثين . . .

هـ - صادات محل محل بعض العناصر الإستقلابية الهامة: (مثل
الفوليك أسيد) للخلية الجرثومية، لتشابهها معها ومن ثم تثبط إصطناع
مواد هامة لاستقلاب الخلية الجرثومية (تثبيط تنافسي): مثل
السلفوناميدات - كوتريموكسازول - P.A.S - إيزونيازيد . . .

II- العوامل المؤثرة لنفاذية الغشاء الهبولى:
(بولى ميكسين - نيستاتين)

III- الصادات الشبطة لتركيب البروتين ضمن الخلية:
(كلورامفينيكول - تتراسيكلين - الماكرولايدات . . .)

IV- الصادات التي تعمل على تثبيط
تركيب الحموض النووية:
(ريفامبين - ناليديكسيك أسيد . . .)



V- صادات تحل محل بعض العناصر الاستقلابية الهامة:
(السلفوناميدات - كوتريموكسازول - إيزونيازيد . . .)

الشكل (٦): آليات تأثير الصادات الحيوية والسلفا على الخلية الجرثومية

• ولعلَّ مجمل هذه التصنيفات الأربعة يعطينا فكرة عن خصائص الصادات الحيوية والسلفوناميدات، علماً أن لكل دواء حرائكه السريرية الخاصة به، وأقصد بالحرائك السريرية: طريقة إعطاء الدواء المثلى (بالفم - بالحقن الوريدي أو العضلي أو تحت الجلد . . .) وإمتصاصه، وتراكيزه الفعّالة في الدم وتوزّعه في باقي المفرزات، مع الزمن اللازم للوصول لتلك التراكيز - مقاديره المرتبطة بالدم والحرارة وثباته في الجسم بشكله الفعّال - طرق إزالة السميّة في الكبد - الجرعات اللازمة للمحافظة على تركيزه الفعّال - آثاره الجانبية على باقي الأجهزة - تراكيزه السمية - إطراحه الكلوي إلخ . . . وهذه كلها من مهمات الطبيب المعالج؛ أما بالنسبة لنا في مختبر الجراثيم الطبية فإنه يجب علينا إنتقاء مجموعة الصادات الحيوية (أقراص التحسس) الملائمة لنوع الجرثوم المعزول، ولمكان الخمج وهذا ما سنوضحه أكثر بعد قليل.

الفصل الثاني

إختبارات تحسس الجراثيم للصادات الحيوية

Antibiogram (Antibiotic Sensitivity)

بعد كل عملية زرع لعينة جرثومية، يتم فيها عزل جرثوم ممرض، لا بدّ من معرفة العوامل الكيماوية التي تقضي على الجرثوم حتى يتم علاجه بالأدوية المناسبة سريرياً.

تُطبّق على كل جرثوم مجموعة من الصادات الحيوية المناسبة، ونعبر عن النتائج كما يلي:

- الجرثوم يتحسس جيداً على صاّد حيوي معين Sensitive بالرمز S : أي من المتوقع تثبط الجرثوم الممرض بواسطة هذه الصادة .

- الجرثوم مقاوم للصاد الحيوي (لا يتحسس) Resistant : بالرمز R : أي من المتوقع أن الجرثوم الممرض مقاوم لتأثير هذه الصادة .

- الجرثوم يتحسس بشكل جزئي للصاد الحيوي Intermediate بالرمز I : وهذا محل خلاف في استخدام الدواء أم لا، ولكي نجزم بفائدة الصادة المختبرة نلجأ لطريقة التمديد بالأنايب كما سيأتي .

- غالباً ما يهتم الطبيب المعالج بالصادة التي تقضي على الجرثوم بشكل فعال (متحسس S) وقد يُشرك أكثر من نوع واحد من الصادات في بعض من معالجاته فقط .

ولكن كيف يمكن معرفة مدى تحسس الجرثوم المعزول لصاّد حيوي ما؟

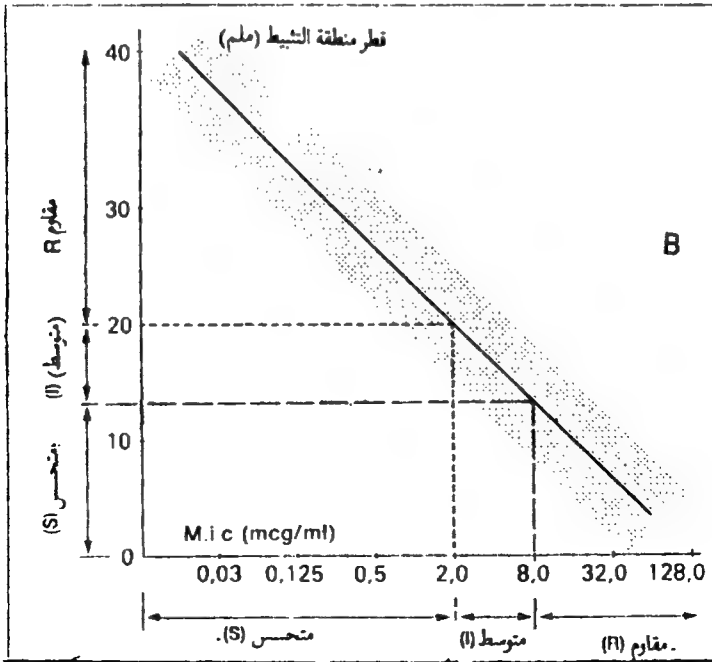
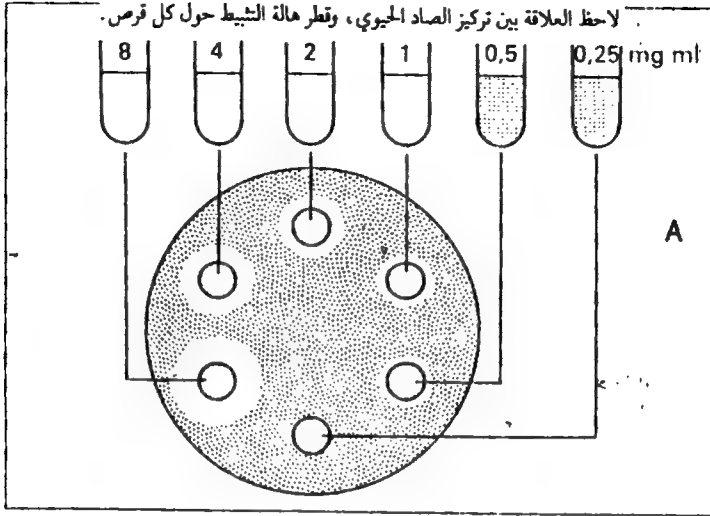
تجرى إختبارات تحسس الجراثيم على الصادات الحيوية بإحدى طريقتين :

أ - إختبارات التحسس بطريقة التمديد (بالأنابيب) :

- المبدأ فيها تعيين التركيز الأدنى للدواء بالمكغ/مل المثبط للجرثوم (Mic) . نجري في جملة عقيمة ، تمديدات مختلفة لصاّد حيوي ما ، بمرق مغذٍ ملائم ، وهو مرق B.H.I ، ثم نضيف إلى كل أنبوب كمية متساوية محسوبة من مستحلب الجرثوم المراد دراسة تحسسه بالنسبة لذلك الصاد ، ومن ثم نحضن الأنابيب السابقة لمدة ١٤ - ١٨ ساعة بالدرجة ٣٥ - ٣٧° م . يخضع الجرثوم في كل أنبوب لتركيز معين من الصاد الحيوي المدروس ، وأقل تركيز (مكغ/مل) من ذلك الصاد والذي يتمكن من منع الجرثوم من النمو المرئي في الأنبوب ندعوه : التركيز المثبط الأدنى M.I.C :

Minimum Inhibitory Concentration (M.I.C) : (أخفض تركيز للصاد الحيوي يمنع النمو المرئي للمتعضي المزروع) . في اليوم التالي نلاحظ أنابيب الزرع . مع شواهدا الملائمة ، ونحدّد أول أنبوب يُبدي صفاءً عيانياً ، وتركيز الصاد الحيوي في هذا الأنبوب يمثل أدنى تركيز من الصاد الحيوي كان كافٍ لمنع نمو الجرثوم المختبر ، وهو نقطة النهاية End Point ، يجب أن يكون التركيز المثبط الأدنى للصاد الحيوي أقل من التركيز السمي لنفس الصاد ، وإلا اعتبرنا الجرثوم مقاوماً للصاد الموافق .

الشكل (٧): طريقة التحسس بالأنايب، وعلاقتها مع التحسس القرصي على الغراء



- نستخدم عدة تراكيز (٢ - ٤ أنابيب) لكل صاد حيوي مختبر ، فإذا علمنا أنه يجب إجراء اختبار التحسس على عدة صادات حيوية لكل جرثوم ، نتج معنا أننا نستخدم عدداً كبيراً من الأنابيب (١٠ - ٢٠ أنبوب) لكل جرثوم مرضي معزول من العينات الخمجية .

- تجرى هذه الطريقة الآن : بجملة مستدقة آلية Microtiter System automated - ، فهي تسهيل العمل وإنقاص ساعات الحضانة إلى ٤ - ٦ ساعات مع رفع الجودة ، ولكنها مكلفة وتحتاج إلى الأجهزة والأدوات الخاصة والمستوردة .

تجرى هذه الطريقة من التحسس في المراكز الطبية والمشايف الكبرى ذات حجم العمل الضخم .

ب - إختبارات التحسس بالإنتشار القرصي على الغراء : (كيري باور) - وهي الطريقة التي تستخدم حالياً في معظم المختبرات الطبية العامة والخاصة ، ويقبل بنتائج هذه الطريقة فيما إذا أجريت بعناية كافية وتحققت شروطها كاملة ، وهي الشروط التي حددها كيري باور واشتهرت هذه الطريقة بهذا الإسم (طريقة التحسس القرصي وفق كيري باور : Kirby - Bauer) .

- تهدف هذه الطريق إلى معرفة سعة منطقة تثبيط النمو الجرثومي حول قرص دائري من الورق النشاف بقطر ٦ ملم ، قد أشبع سلفاً بكمية معينة دقيقة من صاد حيوي معين (مكغ) بعد تثبيته على سطح آغار مفروش بالجرثوم المدروس

- تشير سرعة منطقة التثبيط إلى سرعة إنتشار الصاد الحيوي (من قرص التحسس) ضمن الأغار، ويجرى التحسس لـ ٨ - ١٥ قرصاً لصادات حيوية مختلفة على طبق بتري كبير من آغار موللر هيتتون، وتوصف النتائج في النهاية بأن الجرثوم متحسس S أو متوسط التحسس I أو مقاوم R بالنسبة لكل قرص مختبر.

- من شروط هذه الطريقة أنها تحتاج لأيد متدربة متقنة لعملها، وأنه لا بد من الإنتظار فيها مدة ١٢ - ١٤ ساعة عادة لأخذ النتائج.

- شروط كيربي باور:

وحد كيربي باور معايير العوامل المؤثرة على قياس منطقة التثبيط (باستثناء الجرثوم المختبر طبعاً) وهي: حجم الزرعة المأخوذة من الجرثوم المختبر، تركيز الصاد في قرص التحسس المختبر، عمق الوسط (٤ ملم)، سرعة إنتشار الصاد ضمن الأغار، مدة الحضان، مواصفات آغار موللر هيتتون (الذي يتضمن PH الوسط - تركيز مادة الأغار في - شاردتي Mg, Ca فيه - درجة الرطوبة - العناصر المغذية فيه . . .)

- الطريقة:

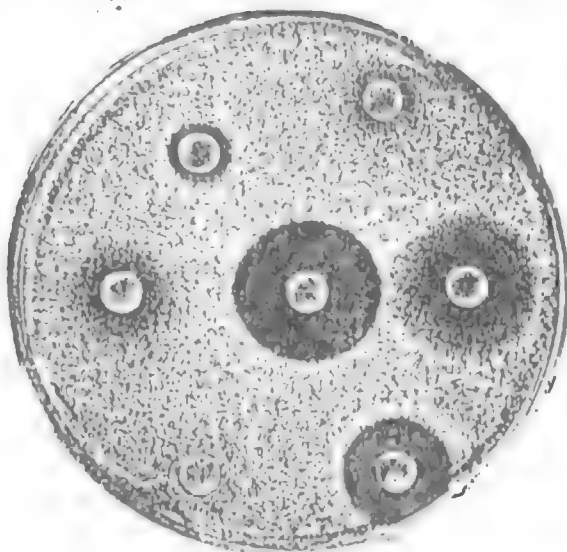
- ١ - نأخذ مستعمرة معزولة من الوسط الزرعي الصلب ونستحلبها في ١
- ٢ - مل من مرق تريبيكاز الصويا مع ١٪ من خلاصة الخميرة، يحضن المستحلب الناتج مدة ٢ - ٥ ساعات بالدرجة ٣٧° م للحصول على معلق جرثومي معتدل التغير، يمدد المعلق بالماء المقطر أو بالماء الملحي الغريزي،

حتى تصبح كثافته معادلة عياناً لكثافة معياري من كبريتات الباريوم* ويهدف هذا لضبط حجم الزرعة.

- تستخدم أطباق بيري بقطر ١٥ سم أو ١٠ سم بأغار موللر هينتون وبشخن ٤ ملم، وفرش المستحلب الجرثومي السابق بواسطة ماسحة قطنية معقمة مرطبة (وليس بالغانة) على كامل سطح الغراء بعد إزالة الفائض من سائل الماسحة بتدويرها مع العصر على بطانة الأنبوب، ويتم الفرش بالماسحة على ثلاثة مستويات: أفقي وعمودي وقطري، ثم تدور الماسحة على محيط الأغار؛ يهدف هذا إلى تجانس توزيع الجرثوم على سطح الأغار. بعد ٣-٥ دقائق، نبدأ بتطبيق أقراص التحسس الملائمة لنوع الجرثوم ولمكان الخمج، بسحبها واحداً بعد الآخر بملقط ملهب أو بواسطة مطبق الأقراص Diskapplicator، مع ضغط القرص بلطف ليعلق على سطح الأغار.

- نضع ٨-١٠ أقراص على محيط العلبة بحيث تكون المسافة بين القرص والآخر وبين القرص وحافة العلبة من ٥، ١، ٢ سم، كما ونضع ٢-٤ أقراص في المركز، ونراعي أن نضع الأقراص التي يتوقع أن تكون ذات هالة تثبيط واسعة في المجموعة المحيطة (مثل بعض الأمينو غليكوزيدات

* معياري كبريتات الباريوم يحضر بإضافة ٥، ٠ مل من محلول كلور الباريوم $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ بتركيز ١٧، ١٪ إلى ٩٩، ٥ مل حمض كبريت ١٪ (٣٦، ٠ نظامي) وهذا العياري المعكرو يحفظ بالظلام ويبدل شهرياً.



١ - شكل المآلات في علة بزي بمولر هيتون



تثييط نام

تثييط جزئي (بالسلفا)

ب - تكبير بعض مآلات التثييط

الشكل (٨): مآلات تثييط النمو بطريقة النحاس القرصي (كيري - باور):

والكوتريمو كسازول .) والأخرى ذات هالة التثبيط الأصغر في المجموعة المركزية (مثل الفانكوميسين والبولي. ميكسين والكاناميسين . .) .
يجب أن تنتهي من تثبيت الأقراص خلال ٥ - ١٠ دقائق على الأكثر من إنتهاء الفرش الجرثومي .

- تخضع العلب مباشرة، طيلة الليل (من ١٤ - ١٨ ساعة عادة) بالدرجة ٣٧° م، ومن ثم تقاس أقطار هالات تثبيط النمو حول كل قرص على حدة بالملم، بواسطة مسطرة مدرجة مناهضة من ظهر العلبة، بما في ذلك قطر قرص التحسس (٦ ملم)، وتتحدد نقطة النهاية عند خط التثبيط التام للنمو بواسطة العين المجردة .

في حال السلفوناميدات والكوتريمو كسازول : تتحدد نقطة النهاية في خط النمو الكثيف وليس الخفيف . وفي حال المتقلبات المتشرة نهمل أي غطاء من الانتشار الذي يظهر ضمن هالات التثبيط .

- نقارن أقطار مناطق التثبيط مع جداول معيارية لتحديد درجة التحسس الجرثومي بالنسبة لكل صاد جهوي ونعبر عن النتائج بـ S أو R أو I

المادة	تركيز المادة في القرص (مكغ) أو (وحدة)	نظر المنطقة الشيط (ملم) -		
		مقاوم (R)	متوسط (I)	متحسس (S)
Amikacin ^{14*}	30 µg	≤ 14	15-16	≥ 17
Ampicillin				
Enterobacteriaceae and enterococci	10 µg	≤ 11	12-13	≥ 14
Staphylococcus and penicillin- sensitive organisms	10 µg	≤ 20	21-28	≥ 29
Haemophilus	10 µg	≤ 19	—	≥ 20
Carbenicillin				
Proteus and E. coli	100 µg	≤ 17	18-22	≥ 23
P. aeruginosa [§]	100 µg	≤ 11	12-14	≥ 15
Cefamandole	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18
Cefoxitin	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18
Cephalothin	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18
Chloramphenicol	30 µg	≤ 12	13-17	≥ 18
Clindamycin	2 µg	≤ 14	15-16	≥ 17
Colistin [#]	10 µg	≤ 8	9-10	≥ 11
Erythromycin	15 µg	≤ 13	14-17	≥ 18
Gentamicin	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15
Kanamycin	30 µg	≤ 13	14-17	≥ 18
Methicillin ^{**}	5 µg	≤ 9	10-13	≥ 14
Nafcillin	1 µg	≤ 10	11-12	≥ 13
Nalidixic acid	30 µg	≤ 13	14-18	≥ 19
Neomycin	30 µg	≤ 12	13-16	≥ 17
Nitrofurantoin	300 µg	≤ 14	15-16	≥ 17
Penicillin G ^{‡‡}				
Staphylococci	10 units	≤ 20	21-28	≥ 29
Other organisms	10 units	≤ 11	12-21	≥ 22
Polymyxin B [#]	300 units	≤ 8	9-11	≥ 12
Streptomycin	10 µg	≤ 11	12-14	≥ 15
Sulfonamides				
N. meningitidis only	250-300 µg			≥ 40
Other organisms	250-300 µg	≤ 12	13-16	≥ 17
Tetracycline	30 µg	≤ 14	15-18	≥ 19
Tobramycin	10 µg	≤ 11	12-13	≥ 14
Trimethoprim- sulfamethoxazole ⁵⁰	1.25-23.75 µg	≤ 10	11-15	≥ 17 = S/ ≥ 23 = SS
Vancomycin	30 µg	≤ 9	10-11	≥ 12

الشكل (٩): جدول يبين أنماط حالات الشيط الملائمة (ملم) لكل قرص صا حيوي مع تركيزه (مكغ)

ملاحظات هامة :

١ - يجب استخدام مُتعضّيات شاهدة معيارية معلومة الحساسية سلفاً لصادات حيوية معينة ، وتطَبّق بين العينة والأخرى لمراقبة جودة الطريقة المتتالية (مثل : المكورات الذهبية من ذرية ATCC 25923 - والإشريكيّات القولونية من ذرية ATCC 25922 . . .)

٢ - لا حاجة لإجراء التحسس الدوائي عندما يكون الجرثوم المعزول ذو نمط معلوم التحسس سلفاً : مثلاً : هناك عضيات تتحسس للبَنسِيلين بشكل جيد مثل : محبات الدم - النايَسِيرِيّات - الفطر الشعاعي - الوندِيّات الحَنَاقِيّة - في حين أن البروسيلات تتحسس جيداً للثيتراسيكلين . وبالمقابل نقول : يجب إجراء التحسس الدوائي لكل العُضَيّات التي تعرف بمقاومتها أو بتبدل نموذج تحسسها للصادات الحيوية كالإشريكيّات القولونية والأمعائية والمقلّبات والكلبسيّلة والعنقوديات والعقدِيّات البرازية والزوائف . . .

كما يجب إجراء التحسس الدوائي عند وجود قصور في آليات الدفاع الحيوية لدى المريض وكذلك في سياق المعالجة الدوائية عند الشك بفعالية الجرعات المعطاة أو بفعالية الدواء ذاته .

٣ - لا تستخدم طريقة التحسس القرصي للجراثيم شديدة الحساسية كمحبات الدم والنايسيريّات المعزولة . . .

٤ - يجب أن تكون مجموعة أقراص التحسس المختارة ، ملائمة لنوع الجرثوم ولمكان التجمّع ، وسنذكر فيما يلي بعض أنواع الصادات الحيوية التي

من الضروري أن نطبق أقراسها على الزروع الموافقة، كأمثلة وليس على سبيل الحصر:

١- خج السيل البولي:

- بعضيات سلبية الغرام: أميسيلين وأموكسيسيلين - كاربنسيلين - سيفالوسبورين - الأمينو غليكوزيدات - كوتريموكسازول - ناليديكسيك أسيد - ناتير وفور انتونين - بيبى ميديك أسيد - أوكسولينيك أسيد . . . وقد يوضع الكلورامفينيكول.

- بالمكورات إيجابية الغرام: بنسيلين - كلوكساسيللين أودي كلوكساسيللين أموكسيسيللين - سيفالوسبورين - تيترا سيكلين - كوتريموكسازول ، ويمكن وضع : جنتاميسين - كاناميسين ، وقد يوضع الكلورامفينيكول.

٢- خج الطريق التناسلي: عند الذكر بالمكورات أو المزدوجات (زروع السائل المنوي أو مفرزات الإحليل): الإريتر ومايسين - السلفا - سيفالوسبورينات - كوتريموكسازول - تيترا سيكلين - أميسيلين - كلوكساسيللين - كلورا مفينيكول - ويمكن وضع بعض من الأمينو غليكوزيدات في حالات التعيد على الصادات الأخرى.

٣- خج الطرق التنفسية بالمكورات إيجابية الغرام (مسحات البلعوم والأنف والقشع): بنسيلين - فانكومييسين - أميسيلين - كلوكساسيللين - أموكسيسيللين - سيفالوسبورين - لينكومييسين أو كلينداميسين - إريثر مايسين - سيراميسين - تيترا سيكلين - كلورا مفينيكول - ويمكن وضع

بعض من الأمينو غليكوزيدات في الحالات المعقدة.

٤ - خمج جلدي (سطحي) بإيجابية الغرام (قيح سطحي): يشبه المثال رقم (٣) ويضاف للصادات أيضاً: نيوميسين - باستيراسين - فوسيديك أسيد. فهذه الصادات يمكن أن تطبق كمراهم جلدية خارجاً.
٥ - خمج الدم بإيجابية الغرام: يشبه المثال رقم (٣) ويضاف أيضاً: الأمينو غليكوزيدات - الستربتومايسين.

٦ - خمج الطرق التنفسية العليا بالعصيات سلبية الغرام (مسحات أنفية أو بلعومية أو قشع): أموكسيسيلن أو أميسيلين - سيفالوسبورينات - أمينو غليكوزيدات - تيراسيكلين - كلورا مفينيكول.

٧ - خمج الدم أو الخمج الجلدي السطحي بالعصيات سلبية الغرام: يشبه المثال رقم (٦).

٨ - في معظم الزروع التي تعزل فيها الزوائف الزنجارية (الأذن - الحروق - القصبات . . .) يجب وضع: الأمينو غليكوزيدات بأنواعها - البولي ميكسين والأوكسي تيراسيكلين - كاربنسيلين - السلفاميدات الكلورا مفينيكول.

- أما خمج الجهاز البولي بالزوائف (زروع البول) فيضاف لما سبق: ناتير وفور انتونين - ناليديكسيك أسيد - بيبى ميديك أسيد.

* وكل هذا يمثل إقتراحات وخطوط عمل عامة لإنتقاء أقراس التحسس المختلفة بغية تحقيق هدف: إنتقاء الصادات الملائمة لنوع الجرثوم المعزول ولمكان الخمج.

* لا ننسى هنا أنه في أحماج الزوائف (البولية وبالحروق): قد تكون الاستجابة السريرية (في الحياة) أفضل منها في المختبر (في الزجاج).

٥ - بعض الأخطاء الشائعة بطريقة التحسس القرصي:

أ - عدم التقيد بالكثافة النظامية للمستحلب الجرثومي واختلاف حجم الزرعة زيادة أو نقصاً.

ب - عدم التجانس في فرش المستحلب على الأغار لأي سبب (هناك من يستعمل الغانة للفرش!).

ج - إنتظار فترة طويلة بين الفرش وتطبيق الأقراص، أو بين تطبيق الأقراص والحضن.

د - عدم استعمال الصادات الحيوية الملائمة لنوع الجرثوم ومكان الخمج.

هـ - عدم التقيد بشروط الأغار: بالنوع والسخن وطازج أم لا . . .

و - عدم مقارنة أقطار هالات الشبيط مع الجداول المعيارية الملائمة.

ز - التلاعب بتركيز الصاد الحيوي بالقرص، من قبل الشركة المصنعة، أو سوء حفظ الأقراص، أو إنتهاء فعاليتها.

٦ - هناك إختلافات بين أوضيلة بين نتائج التحسس للصادات

الحيوية في الزجاج In Vitro (في المختبر) عن نتائج الحياة In Vivo ، أي استجابة المريض السريرية بعد تطبيق نفس الصاد الحيوي ، وذلك لعجزنا عن تحقيق الشروط المثالية كاملة المطبقة في الزجاج، عجزنا عن تحقيقها لدى

المريض المعالج : فقد يكون إمتصاص أمعاء المريض للصاد المعطى ضعيفاً وبالتالي ينخفض تركيز الصاد المطلوب ، وكذلك قد يعجز الصاد الحيوي بعد إمتصاصه عن الوصول إلى تماس فعال مع الجرثوم في بؤرة الخمج ويثبت لأسباب كثيرة ، وقد يتخرب الصاد قبل تماسه مع الجرثوم فيغدو قليل النفع ، وقد لا تحقق الجرعات المتناولة تراكيز فعالة بشكل مستمر في الدم ،
والخ . . .

وعلى هذا ، ينظر الطبيب المعالج إلى نتائج التحسس الدوائي المتقنة على أنها «أفضل وسيلة متاحة يمكننا بها إختيار الصادة الحيوية الأكثر ملاءمة» وبالتالي فإن ضمان الشفاء من المرض ليس في حوزتنا كأطباء معالجين أو مخبريين .

ولكننا لا ننسى : أننا نقدم الوسيلة الفضلى المتوفرة علمياً بطريقة التحسس القرصي ، لذلك يجب التقيد التام بشروط الطريقة المذكورة آنفاً ، كي نقدم للمريض أفضل ما يمكن من احتمال الشفاء .

الباب الثالث

الفصل الأول - الحماة الراشحة

الفصل الثاني - الريكتسيات

الفصل الثالث - المتدثرات

الفصل الرابع - المفطورات

الفصل الأول

الحُمات الراشحة (الفيروسات) Virus

- الحمة الراشحة :

مخلوق حي دقيق جداً، أصغر من الخلية الجرثومية، تنتشر بكثرة في الطبيعة والمياه والتربة وعند الإنسان والحيوان والنبات، داخل خلوي مُجبر، وله تنوع هائل وخواص مناعية متميزة.

- الحُمات الراشحة الممرضة للإنسان وللحيوان على أنواع كثيرة وتسبب أعلى نسبة لأيام التعطيل عن العمل الموقت من بين جميع الأمراض.

- يبلغ قطر الحُمة الراشحة حوالي ١٠ - ٣٠٠ ميللي ميكرومتر (= ١٠^{-٩} متر = نانومتر) ولا يمكن رؤيتها حتى بالمجهر العادي، بل لا بد من المجهر الالكتروني لإيضاح أجزائها والتعرف على معالمها الأساسية.

- تتكاثر الفيروسات وتنمو في أوساط زرعية خاصة بها وهي : الخلايا الحية - نظراً لأن الفيروسات طفيلية مُجبرة - فمستنبثها الملائم هو الخلية الحية وليس أوساط الزرع الجرثومية التي مر ذكرها سابقاً، ذلك أن الفيروسات لا بد لها من أن تستخدم جملة الأنظيمات الخلوية وأن تُسخر طاقة الخلية المصابة وصبغياتها لإنتاج نسخ من الفيروس الغازي، فهي بذاتها لا تملك جملة خمائرية خاصة بها (داخل خلوية مجبرة).

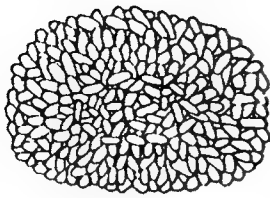
إن هذه الخاصية في مستنبتات الزرع الفيروسية تتطلب تجهيزات خاصة وإمكانات كبيرة لتأمين المزارع الحية وسبل الوقاية من العدوى، ومن أمثلة المستنبتات الحُموية: دماغ الفأر الأبيض - قرنية عين الأرنب - جنين البيض - جنين مجهض لإمرأة كانت حاملاً - أجنة القردة . . . الخ، وبعد إجراء تلقيح تلك النسيج الحية بالفيروسات، تلاحظ التغيرات النوعية الطارئة على خلاياها، إذ غالباً ما يدل نوع التغير وخصائصه على زمرة معينة من الحمات الراشحة .

- يكون شكل الفيروس كروياً أو مكعباً أو إهليلجياً أو على شكل النطفة أو على شكل الكرة المستنة ذات السطح الشز وغيره (انظر الشكل)

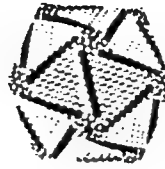
- يتكون الفيروس من الغلاف الخارجي (الظرف) Enveloped Virus والقُفْصَة Capsid ذات البنية المستضدية، والحمض النووي الـ RNA أو أثاره من DNA كل على حدة، إذ لا تحوي الحمات الاثنتين معاً .

● من أمثلة الحمات الراشحة الحاوية على الرنا RNA : الحصبة والنكاف والانفلونزا بأنواعها والكَلْب (أو السَّعَار) والحصبة الألمانية وشلل الأطفال وإيكوكوكساكي والفيروسات الأنفية وغيرها . . .

● ومن أمثلة الحمات الراشحة الحاوية على الدنا DNA : الجدري والحقاق (= جدري الماء = أبو خريون) وداء المنطقة والعقولة البسيطة وغيرها . . .



Poxviridae



Iridoviridae



Herpesviridae



Adenoviridae



Papovaviridae



Parvoviridae

أ - حمات راشحة حاوية على الدنا D.N.A



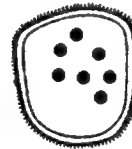
Paramyxoviridae



Orthomyxoviridae



Coronaviridae



Arenaviridae



Retroviridae



Reoviridae



Picornaviridae



Rhabdoviridae



Orbivirus



Togaviridae



Bunyaviridae

100 nm

Arboviruses

ب - حمات راشحة حاوية على الرنا R.N.A

الشكل (١٠): ترسيم مبسط لأشكال بعض الحمات الراشحة

● وهناك حمات راشحة أخرى مُختلفة في تصنيفها مثل : حمات التهاب

الكبد الإلتاني A وحمات التهاب الكبد المصلي B

- إن الحمض النووي (RNA أو DNA) هو الجزء المُعدي من

الفيرس والذي يسبب التغيرات المرضية في الخلية المهاجمة ، وتلك الخلايا المهاجمة بدورها : ترد على ذلك بإفراز العديد من المواد المقاومة للفيروس الغازي وتأثيراته الهدامة ، والترياق الخلوي النوعي فيها هو بروتين (الإنترفرون) مع مجموعة كيميائية أخرى.

- تستثير الحمات الراشحة نوعي المناعة : الخلطية والخلوية وفي المناعة

الخلطية تظهر الأضداد النوعية الكبيرة IgM أولاً باكراً ، ومن ثم تظهر IgG .

- إن التشخيص الواسع لأمراض الحمات الراشحة يعتمد على تحري

أضدادها النوعية وعباؤها في دم المصاب بالطرق المناعية المتنوعة ، كالتراص الدموي وتفاعل تثبيت المتجمعة . . .

مثل : تحري أضداد الحصبة الألمانية وعباؤها - تحري أضداد النكاف

وعباؤها . . . (رَ : تحري أضداد الحمات في أبحاث المناعيات العامة) .

الفصل الثاني

الريكتسيات *Rickettsiae*

- وهي مخلوقات صغيرة، أصغر من الجراثيم، وأكبر من الحمات الراشحة، على شكل عصيات قصيرة، أبعادها بين ٢, ٠ - ١ ميكرومتر، داخل خلوية مجرة (شبه الحمات)، لها جدار خلوي يشبه الجدار الخلوي للجراثيم، سلبية غرام، كما أنها تملك جملة محدودة من الأنظيمات الخاصة بها (وهذا أمر تشبه فيه الجراثيم ويفرقها عن الحمات الراشحة) كما أنها تحتوي على الـ DNA والـ RNA معاً.

- مستودعها الطبيعي : مفصليات الأرجل (مثل القمل والقراد والعتّ والبرغوث) وعندما تنتقل إلى الإنسان تسبب له الآفات التي يتميز معظمها: بالحمى والطفح الجلدي عادة (مثل : التيفوس، وحمى كيو Q Fever تيفوس الأدغال، حمى الخنادق . . .)

- بتلوين غيمزا، تظهر عَصُورَات فردية أو مثنى أو متجمعة على شكل سلاسل، باللون الأزرق، وهو اللون المفضل لإظهارها بالمجهر العادي .

- عزلها بالاستنبات صعب جداً، فهي لا تنمو بالأوساط الجرثومية بل تحتاج إلى مستنبات الحمات الراشحة (مزارع نسيجية) والأفضل لها جنين البيض .

- يتم تشخيص الإصابات بالريكتسيات بكشف الأضداد المصلية :
كاختبار تثبيت المتممة واختبار تراص بعض زمر المتقلبات بأضداد
الريكتسيات (تفاعل وايل فيليكس Well - Felix Reaction) وغيرها . . .
- تعالج أمراض الريكتسيات بـ الكلورا مفينيكول أو النيتراسيكلين .

الفصل الثالث

المتدثرات (الكلاميديا Chlamydiae)

المتدثرات مخلوقات دقيقة، تشبه الريكتسيات كثيراً، إلا أنها لا تحتاج إلى مفصليات الأرجل كمستودع طبيعي لها، داخل خلوية مجبرة، سلبية الغرام، أقرب إلى الجراثيم منها إلى الحمات لامتلاكها الجدار الخلوي، وجسيمات ريبية.

كما أن تكاثرها يتم بطريقة الانقسام البسيط، وهذا مالا تفعله الحمات، لكن حاجة المتدثرات إلى الطاقة، وعدم اكتمال جملها الأنظمية اضطررها إلى الحياة ضمن الخلية الحية إجبارياً، ومستنباتها هي المزارع النسيجية كجنين البيض أو أدمغة الفئران.

- تسبب أمراضاً متنوعة أهمها:

- ١ - أخماج العين: خمج الملتحمة المشتمل والتراخوما..
 - ٢ - أخماج الجهاز التناسلي: الداء الحبيبي اللمفاوي (قد يكون زهرياً) - خمج الاحليل اللا سيلاي وخمج عنق الرحم..
 - ٣ - أخماج الطرق التنفسية: ذات رئة..
- يتم تشخيص آفات العين بإجراء كُشَاطَة الملتحمة ورؤية الأجسام المشتملة أو المندجة (Inclusion Bodies) التي هي أجزاء متكتلة من الحموض النووية للمتدثرات (كما تفعل الحمات) وذلك في الحالة الحادة الباكرة من الإصابة العينية.

- التشخيص الواسع لأمراض المتدثرات يمكن الاعتماد فيه على الفحوصات المصلية : كتفاعل تثبيت المتمة ..
- التيترا سكلين هو الدواء المفضل لمعالجة المتدثرات وربما نستخدم السلفا أو الأريتر ومايسين .

الفصل الرابع

المفطورات (الميكوبلازما *Mycoplasmas*)

المفطورات مخلوقات دقيقة أيضاً، لا تحوي جداراً خلوياً، لذلك تظهر بأشكال متعددة ومختلفة، قطرها يتراوح بين: ٠,٢٥ - ٠,١٢٥ ميكرومتر (بين ١٢٥ - ٢٥٠ نانومتر) أي أن حجمها قريب من الحماة الراشحة، غير أنها تحوي الـ DNA والـ RNA معاً وتتكاثر بالانقسام البسيط، إذ تولد عكراً خفيفاً على المنابت الصناعية كالمرق المغذي، ولها القدرة على توليد الطاقة الاستقلابية لامتلاكها جمل الأنظيمات الخاصة بها، فهي ليست مجبرة التطفل داخل الخلايا، لكنها تضطر إلى الأكسجين لنموها، لذلك فهي هوائية مجبرة مع حاجتها لتركيز عالٍ من غاز CO₂ ومن البروتين في وسط الزرع في بيئة قلوية (PH = ٨,٥ - ٨) ..

- يمكن للمفطورات أن تنمو على المرق المغذي المضاف إليه سائل الحبن أو مصل الدم بنسبة عالية (قد تصل إلى ٤٠٪) بالحرارة ٣٧°م وخلال ٢ - ٣ أيام، فتسبب عكراً خفيفاً، وعند تحضير لطاخات من ثفالة المرق المركزة وتلوينها بملون غيمزا نشاهد المفطورات.

- هناك منابت صناعية خاصة للمفطورات تحوي على البروتين بتركيز عالٍ مع بعض الصبغات والبنسلين ليكون الوسط ناخباً لها، إذ تنمو عليها على شكل مستعمرات صغيرة ناعمة غاطسة في سطح المستنبت وقد تكون ناعمة جداً تحتاج للمكبرة.

- تستطيع المظطورات أن تنمو على المزارع النسيجية أيضاً كجنين البيض (مثل الحمات والريكتسيات والمتدثرات).

- تسبب المظطورات: ١- آفة الميتة الرئة: ذات الرئة والجنب بالميكوبلازما P.P.L.O ويعتمد التشخيص على عزل المظطورات من مسحات البلعوم أو القشع ..

٢- آفات الاحليل: التهاب الاحليل بالميكوبلازما.

- يتم التشخيص:

١ - بعزل المظطورات من العينات بالزرع على الأوساط الخاصة بالميكوبلازما.

٢ - أوبتجري أضداد المظطورات في مصل المريض (التحريات المصلية): بطريقة تثبيت المتممة ..

- تتأثر المظطورات بالتترايسكلين، ولا تتأثر بالبنسلين والسلفا.

الباب الرابع

الفصل الأول : المناعيات العامة .

الفصل الثاني : مبادئ التفاعلات المناعية .

الفصل الثالث : تقييم بعض الاختبارات المناعية الشائعة .

.

الفصل الأول

مبادئ المناعيات العامة

Immunology Principles

* مقدمة ومدخل :

عائلة مكونة من عدة أفراد، أصيب أحدهم بالحمى المعوية (الحمى التيفية) دون الباقي، مع العلم أن الجميع يعيش في بيئة واحدة ويتناول طعاماً واحداً، ويخضع لمناخ واحد، ولنموذج حياتي صحي واجتماعي واحد، فما الذي جعل فرداً واحداً هدفاً للإصابة الإبتانية (الحمجية) دون غيره؟!

- تبدأ لقاحات الأطفال الرضع في الشهر (٣ - ٤) عادة، ثم يتلقى الطفل الجرعة الثانية بعد (٦ - ٨) أسابيع، والجرعة الثالثة بعد نفس المدة، والجرعة المعززة (الداعمة) في نهاية السنة والنصف الأولى من العمر، والمعززة الثانية عند أول دخوله للمدرسة (على خلاف المصادر)، فلماذا؟ وما الهدف؟

* بدأ علم المناعيات تاريخياً، بما دلت عليه الملاحظة والتجربة من أن الأشخاص الذين يشفون من الأمراض الحمجية مثل (الجدري، الحصبة، الحصق، الطاعون) يصبحون مقاومين (منيعين) للهجمات التالية من الأمراض نفسها، وقد قادت هذه الخبرة إلى محاولات تجريبية لوقاية الناس من أمراض كهذه.

ثم توسع مفهوم علم المناعة العام ليعني «العلم الذي يدرس الردّ أو الارتكاس المناعي الناجم عن تأثير مادة أجنبية على البدن، أو عن حدوث طفرة فيه أو نشوء خلايا أو محاصيل غير مرغوب فيها، في ثنائاه» .

وبشكل أدق نقول: إن البدن الحي كله يعد «ذاتاً» Self لا يهاجم نفسه ولا أجزائه، فإذا دخل جزء أجنبي غريب عنه «سوى» Non Self فإن البدن يتعرف عليه على أنه «سوى» غريب، فتبدأ سلسلة من الأحداث المناعية، الهدف منها القضاء على الـ «سوى» الغازي، عبر سبيلين رئيسيين هما:

أ - الأول: حثّ بعض الخلايا المناعية (اللمفاويات البائية والخلايا المصورية) على إفراز الأضداد النوعية المصلية (الغلوبولينات المناعية Ig - Immunoglobulins) وهذا ما نسميه «بالمناعة الخلطية» Humoral .

ب - الثاني: تشكل بعض الخلايا المقتدرة والمحسنة مناعياً تجاه هذا الـ «سوى» بإحداث حالة من فرط الحساسية، وهذا ما نسميه بالمناعة الخلوية (المناعة المتوسطة بالخلايا C.M.I. / Cell - Mediated Immunity) .

المناعة : Immunity:

هذا التعبير كان يستعمل أصلاً في اللغات الأجنبية ليدل على «الإعفاء من الخدمة العسكرية أو من دفع الضرائب» ثم أصبح مصطلحاً طبياً للمرضى الذين لا يصابون بهجمات جديدة من الجدري أو الطاعون لكونهم قد أصيبوا سابقاً.

ومعنى هذا المصطلح عموماً: مقاومة الثوي Host للعوامل الممرضة التي تغزوه، أو لحاصيلها السامة.

- والمناعة، مناعتان: لا نوعية، ونوعية:

وَهَبَّتْ الفقاريات النوعان معاً على عكس اللا فقاريات، والحق أنها وثيقتا الصلة، ومُحَكِّمَتا العلاقة في الثدييات والإنسان بشكل يدعو للعجب!

١ - المناعة اللا نوعية:

أو المناعة المتأصلة، وهي لا تستلزم التعرف النوعي على العامل الأجنبي، وتشمل:

أ- الإستعصام الموروث أو النوعي: فالإنسان مثلاً لا يصاب بجذري الدجاج، والكلاب لا تصاب بالحصبة، والهنود والزنوج أكثر استعداداً للإصابة بالسل من البيض، . . .

ب- العوائق الفيزيائية والكيميائية: الجلد السليم والأغشية المخاطية السليمة بما فيها من PH معينة وأنظيمات مقاومة للجراثيم على سطح الجلد، وأنظيمات حائلة وأهداب وعصارات هاضمة وحالة في الأغشية المخاطية، والعرق والدموع ومفرزات البدن والعصيات اللبنية في المهبل . . .

ج- الآليات الخلوية: عن طريق التفاعل الالتهابي واشتراك البلعميات (وهي العدلات مفصصة النوى والبلاعم الوحيدة النوى).

د- الأضداد الطبيعية: وهي الموجودة سلفاً دون تعرض مسبق للمستضدات: كأضداد الزمرة (المناعة الطبيعية) . . .

٢ - المناعة النوعية :

وهي منفعلة أو فاعلة :

أ - المنفعلة : تحدث بحقن الضد جاهزاً للبدن أو بنقل الخلايا المحسّسة وذلك من امرئ منيع إلى امرئ غير منيع ، وهذه مناعة منفعلة مكتسبة (صنعية) ، أما المناعة المنفعلة الطبيعية فتنتقل من الأم إلى جنينها عبر المشيمة أو إلى رضيعها عبر اللبأ (الصمغة) ، وأياً ما كان نوع المناعة المنفعلة ، فإنها تتصف بقصر الأمد ولا ذاكرة لها .

ومن أمثلة المناعة المنفعلة الصناعية : إعطاء الغاماغلوبولين الجاهز حقناً بالعضل للوقاية من الإصابة بالحُمّات الراشحة ، كحُمّة التهاب الكبد الإلتهائي وحُمّات التهاب الطريق التنفسي العلوي . . .

ب - أما المناعة الفاعلة وهي المجال الأرحب للدراسة : فلها ثلاث خصائص أساسية هي : التعرف - النوعية - الذاكرة :

أ - التعرف المناعي : أي التعرف على العوامل والمواد الأجنبية «سوى» على أنها متميزة عن أنسجة الجسم ذاته وبروتيناته «ذات» . تدعى المواد التي يتم التعرف عليها «سوى» باسم المستضدات Antigens Ag (مُولّدات الضد) التي تتفاعل نوعياً مع الأضداد المتشكلة والخلايا الناتجة عن ذلك .

س : ما هو المستضد Antigen ؟ [Ag] - (أو مُولّد الضد) ؟

- المستضد مادة إذا دخلت العضوية أدّت إلى إحداث جواب مناعي (ردّ) سواء بتشكيل أضداد نوعية ، أو بتحريض خلايا مُحسّسة ، أو بالأثنين معاً .

ويمتلك المستضد خاصيتين أساسيتين:

أ- القدرة على استثارة الرد المناعي في العضوية المهاجمة (الاستمناع = الاستضداد) ويختلف ذلك من مستضد لآخر وذلك حسب:

قدُ الجزئيء المستضدي - بنيتة الكيميائية - وهيئته الفراغية وتثنياته - طريقة دخوله للبدن - سرعة تقويضه في الجسم . . .

وعلى هذا نجد: أن البروتينات مُستمنعات قوية، والسكريات مستمنعات ضعيفة، أما الشحميات فهي غير مستمنعة لوحدها أبداً «نسميها بالنواشيب» ما لم تُربط ببروتين أو سكر «جزئيء حامل» . .

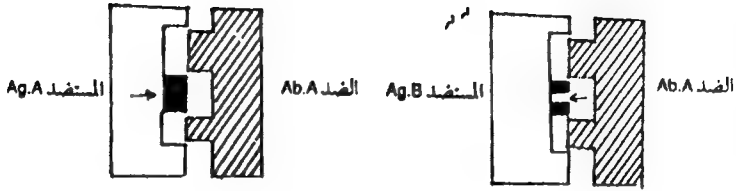
الشكل (١١): جدول اللقاحات: أنماط اللقاح ومكونات بعض اللقاحات الشائعة .

نمط اللقاح	أمثلة
جراثيم حية مُضعفة:	جدري، شلل الأطفال، الحصبة، جدري، ب. ث. ج B.C.G للسل، حصبة المانية، حمى صفراء . .
جراثيم مقتولة:	ت. أ. ب. للثيفية ونظيراتها، الشاهوق، التيفوس، النزلة الوافدة، الحصبة، شلل الأطفال . . .
ذوفانات (مفرزات سمية خارجية):	خُنثاق، كُرَاز . . .

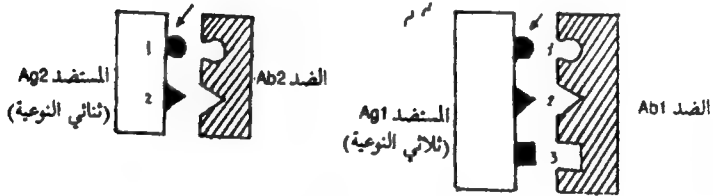
• مكونات اللقاح الثلاثي:

- حقناً بالعضل IM {
- ١ - جراثيم مقتولة لمستدميات الشاهوق .
 - ٢ - ذوفانات معطلة لعصيات الكُرَاز
 - ٣ - ذوفانات معطلة لعصيات الخنثاق

مكونات اللقاح الرباعي: جميع مكونات اللقاح الثلاثي + حبات حية مُضعفة لشلل الأطفال [تُعطى عن طريق الفم



ينتج الضد A استجابة للمستضد A ولكنه يمكن أن يتفاعل
تفاعلاً متصالباً مع المستضد B المماثل بعض الشيء لـ A



1 = محدد مستضدية 1
2 = محدد مستضدية 2



مستضد حمة واشعة Ag (لاحظ القرابة المستضدية)

لاحظ القرابة المستضدية التي ينشأ عنها أعداد يمكن لها أن تتحد جزئياً مع مستضدات أخرى (التصلبات المناعية)

الشكل (١٢): التصلب المناعي الناجم عن القرابة المستضدية (القفل والمفتاح = النوعية)

ب - القدرة على التفاعل بشكل نوعي مع الضد المتشكل أو مع الخلايا المُحَسَّسة التي حثَّ على تشكيلها.

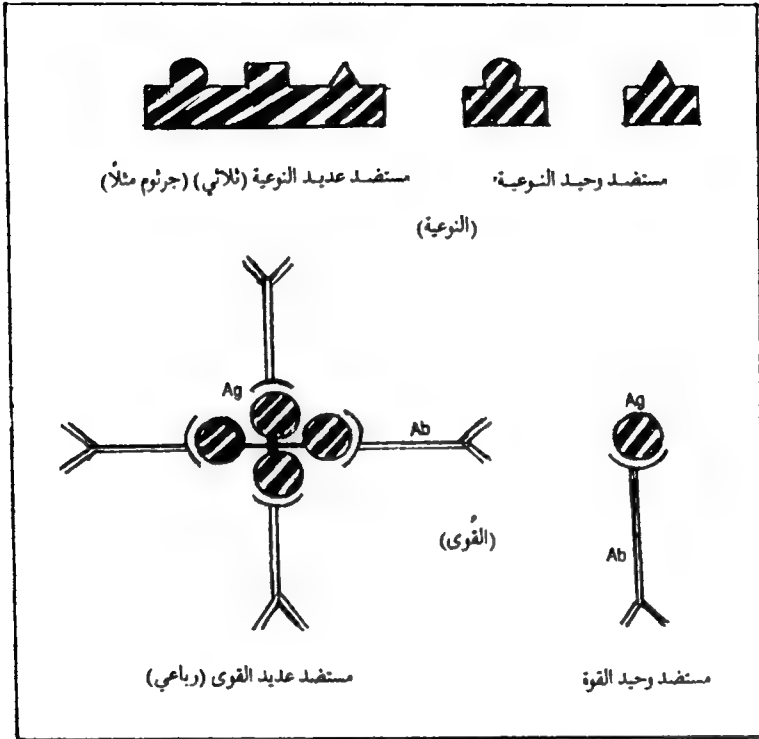
- إن الجزء من المستضد الذي يتحد مع الضد النوعي يسمى بـ «المُحدِّدَة المستضدية Antigenic Determinant» وهي نفسها الجزء الذي يُحرِّض على إنتاج الأضداد النوعية.

من المستضدات ما يحمل محددات مستضدية من نوع واحد، يسمى «مستضد وحيد النوعية» Monospecific، في حين أن منها ما يحمل محددات مستضدية مختلفة الأنواع: فيسمى «المستضد عديد النوعية Polyspecifics».

- وقد يتحد الضد مع جزيء مستضدي واحد فنسميه: ضد وحيد القوة Monovalant، في حين أنه قد يستطيع الاتحاد مع أكثر من مستضد واحد فنسميه: ضد عديد القوى Polyvalant.

- وقد تتشابه مُحدِّدَة مستضدية لمستضد معين مع مُحدِّدَة مستضدية لمستضد آخر، وهذا ما نسميه بـ «القرابة المستضدية»، وينشأ عن ذلك توليد أضداد نوعية تتشابه فيما بينها ببعض أجزائها، وهذا ما يسبب «تفاعلات التصالب المناعية» كما هو الحال في المثالين الشائعين التاليين:

* - القرابة المستضدية بين مختلف أنواع السلمونيلات (التيفية T ونظيرة التيفية A ونظيرة التيفية B) بالمستضد الجسمي (O) لكل منها، (راجع اختبار فيدال في الاختبارات المناعية الشائعة).



الشكل (١٣): تمثيل النوعيات والقوى

* - وكذلك القرابة المستضدية بين الحُمات الراشحة (المسببة لانتان الطرق التنفسية العليا الفيروسي) وبين بعض الجراثيم (السلمونيلا).

- قد يكون المستضد خلية غريبة، أو سرطانية، أو جرثوماً أو فطراً، أو حماتٍ راشحة، أو طفيليات، أو أية مادة بروتينية أو شحمية بروتينية أو سكريات غريبة عن «الذات».

- يمكن تحديد طرق دخول المستضدات للعضوية كما يلي :

١ - عبر جهاز الهضم (ابتلاع - طعام).

٢ - جهاز التنفس (استنشاق).

٣ - الحقن العضلي أو الوريدي أو تحت الجلد.

- إن أهم المستضدات التي تملكها الجراثيم عموماً هي :

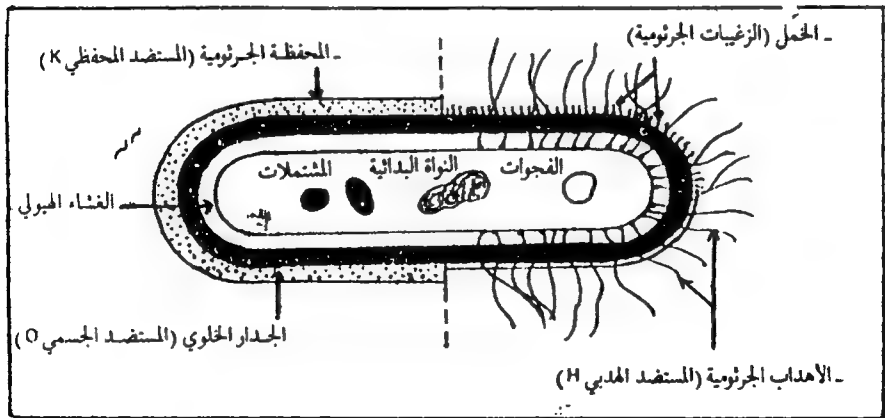
١ - مستضد الجدار الخلوي للجراثيم : المستضد الجسمي (O) .

٢ - المستضد الهديبي (H) .

٣ - المستضد المحفظي (K) .

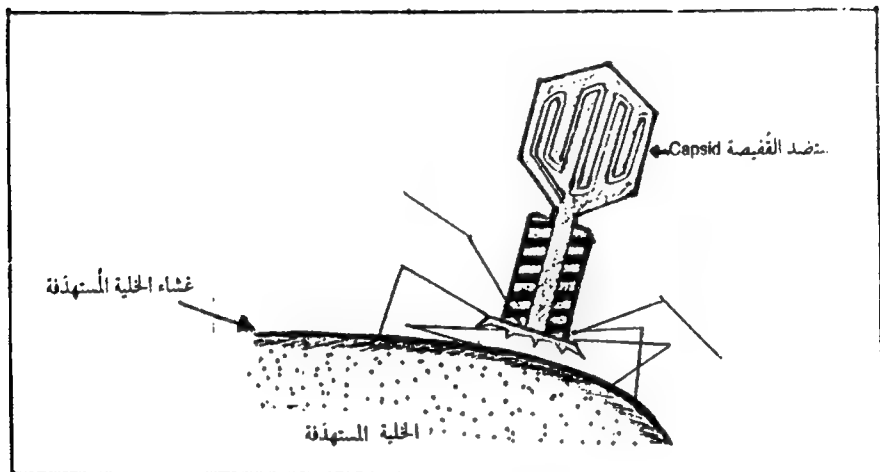
٤ - كما وتعد الذوفانات التي تفرزها الجراثيم للخارج ذات قدرة

استمناعية قوية (ذيفان الكزاز - ذيفان الحالة العقدية - ذيفان الخناق . . .) .



الشكل (١٤) : أهم أنواع المستضدات الجرثومية :

- أهم المستضدات التي تملكها الحشرات الراشحة هي: مستضد القفصية Capsid وهو الغلاف الذي لا يدخل للخلية المهاجمة أصلاً.



الشكل (١٥): المستضدات الحموية،

س - ولكن: من يقوم بالتعرّف على المستضد الغازي؟

* تقوم الخلايا المؤهلة مناعياً (وهي اللمفاويات الصغار) بعملية «التعرف المناعي» على المستضد، وهي تتحرك بنشاط دون أن تقوم بالبلعمة، وليس لها شبكة هيولية باطنة كما هو الحال في الخلايا المصورية، وتؤلف تلك اللمفاويات حوالي ثلث كريات الدم البيضاء الجائزة، ومنها أعداد أكبر ترابط في الأنسجة اللمفاوية الأخرى ويقدرُ أجلُ بعضها بالسنوات.

* تصنف اللمفاويات وفق وظيفتها إلى نمطين رئيسيين :

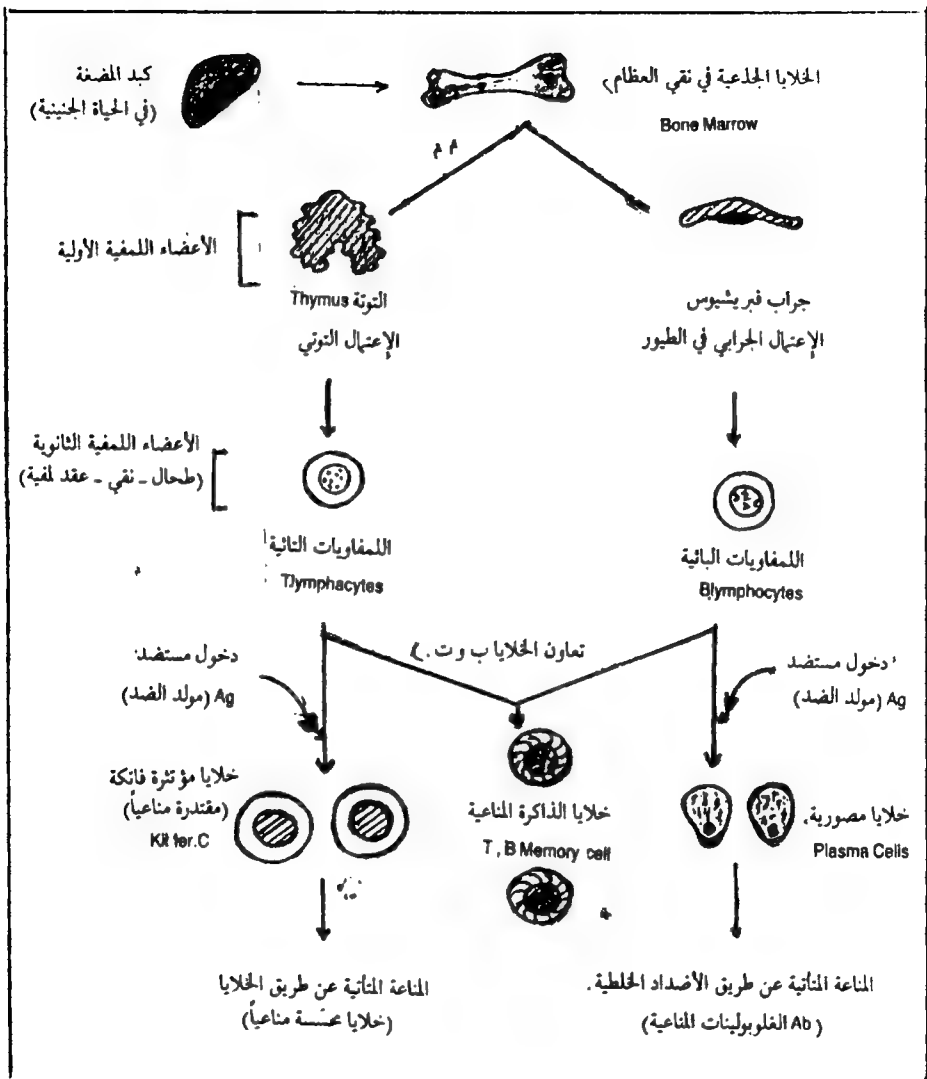
- اللمفاويات التائية T-Lymphocytes : مشتقة من التوتة Thymus (التيروس).

- اللمفاويات البائية B-Lymphocytes مشتقة من النقي Bone Marrow.

● لمحة موجزة عن مراحل تخلق الجهاز المناعي : (انظر الشكل) .

تتخلق الخلية الجذعية المكونة للدم من الكيس المحي للبيضة الملقحة ومن كبد المضغة ، ومن ثم تهاجر للنقي الذي يصبح بعدئذ المصدر الوحيد للخلايا الجذعية في الجنين والوليد والرضيع والطفل والفتى والكهل والشيخ وعندما يؤذن بوقت الولادة تهاجر جمهرة من الخلايا الجذعية المكونة للدم من النقي إلى التوتة ، حيث تتكاثر فيها بفعالية متحولة إلى خلايا لمفاوية تائية مؤهلة مناعياً ، ماتلبث أن تغادرها لتجول على الدوام فيما بين الدم والأعضاء اللمفاوية المحيطية ، واللمفاويات T هي المسؤولة عن المناعة الخلوية . ومن اللمفاويات T أيضاً اللمفاويات T المؤازرة Helper التي تساعد اللمفاويات البائية ، التي بدورها لا تستطيع العمل على الوجه الأكمل إلا بمساعدة المؤازرة من الـ T .

- وهناك جمهرة أخرى من الخلايا الجذعية اللمفاوية في النقي ، تخضع لعمليات تكاثر وتمايز في موضع لم يحدد بعد في الثدييات ، وهو معروف عند الطيور بـ «جراب فبريشيوس» (في المعى الخلفي) Burso of Fabricius



الشكل (١٦): اشتقاق اللمفاويات التائية والبائية وخطوات تفعيلها مناعياً

ويستهي المطاف بهذه الخلايا إلى تشكيل اللمفاويات البائية
B-Lymphocytes .

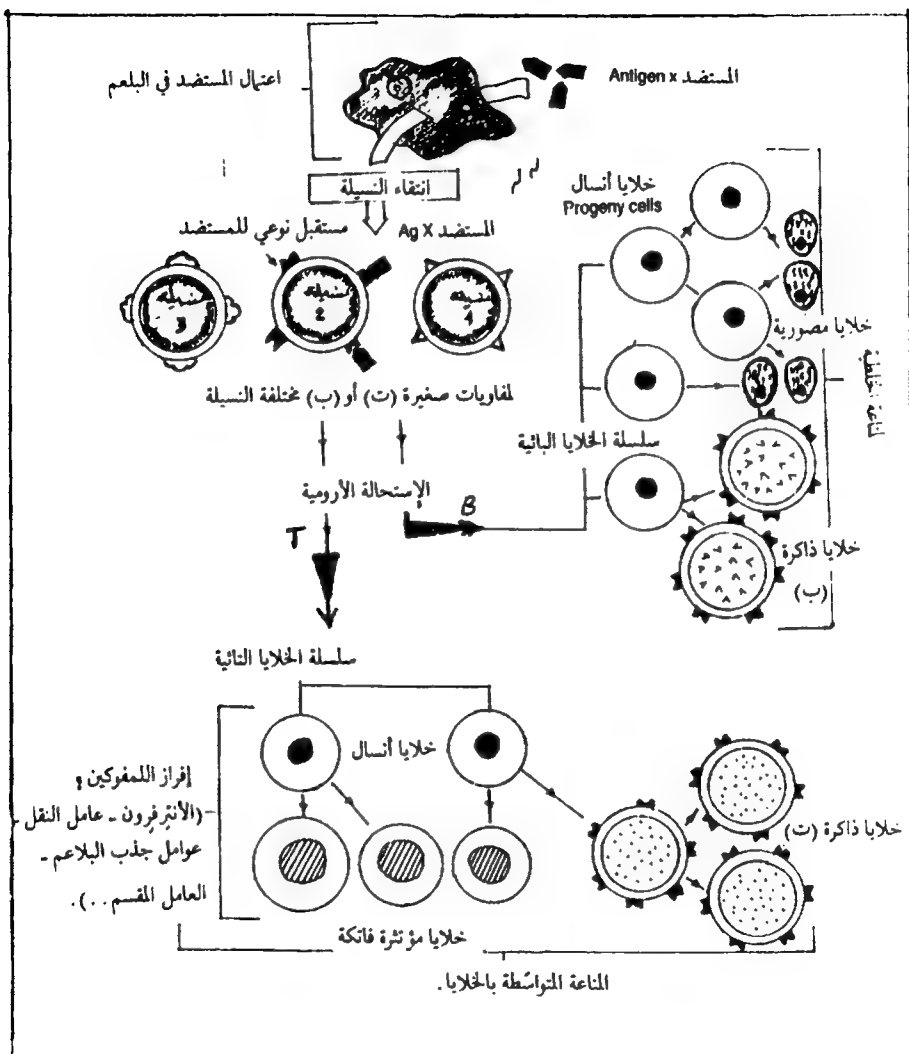
لا يمكن التفريق بين نوعي اللمفاويات بالمجهر الضوئي العادي
ولنا بالغلوبولينات السطحية ومستقبلات المستضدات .

● والآن لتتابع معاً الأحداث المناعية باختصار عند دخول مستضد Ag
«فُج» معين إلى البدن :

تقوم البلاعم بالتقام ذاك المستضد الغازي ، ثم تلفظه وتقدمه
«مُعَاملاً ناضجاً» لللمفاويات البائية والتائية المناسبة لذلك المستضد ، والتي
تتفاعل معه على مستقبلاتها الغشائية الخاصة والنوعية (حسب نظرية إنتقاء
النسيلة «ماك فِرين» (أي أن كل نوع معين من المستضدات يتثبت ثم يمرض
نسيلة معينة من اللمفاويات Mac Farlane Burnet) ثم تتعاون اللمفاويات
ت وب المحرصة فيما بينها ، ومن ثم تطرأ أمور تطورية مذهشة على نوعي
اللمفاويات ، نتيجة لذلك التماس مع المستضد المعامل السابق :

أ - إذ تعاني اللمفاويات البائية من استحالة أرومية ، وتتكاثر معطية : خلايا
الذاكرة المناعية، وكذلك مجموعة خلايا كبيرة فعالة هي الخلايا المصورة ،
التي تصطنع الأضداد النوعية Ab وتفرزها طيلة حياتها القصيرة (المناعة
الخلطية) (من ١٨ - ٤٨ ساعة) .

إن معظم الخلايا البائية الجوّالة في الدم هي جبهة تطوف باستمرار
بين مجرى الدم والأنسجة اللمفية ، ويعتقد البعض أن معظمها خلايا ذاكرة
مناعية .



الشكل (١٧): تمثيل ترميزي مبسط للتنبيه المستضدي وعواقبه

ب - أما اللمفاويات النائية، فبعد الاستحالة الأرومية، تتحول إلى خلايا فعّالة ما تلبث أن تعاني من تحولات تشايز وتتكاثر خلالها إلى خلايا فاتكة Killer (قاتلة) وإلى خلايا ذاكرة أيضاً، والخلايا الفاتكة تسبب الأذية للخلية الـ «سوى» الغازية أو «الطافرة» أو «السرطانية» أو خلايا الأعضاء المغروسة، أو للخلايا التي تُؤوي الحماة، كما أنه - وهذا أمر مناعي هام جداً - خلال تكاثر الخلايا - ت، يتم إفراز عوامل بروتينية فعّالة حيويّاً تسمى : (اللمفوكينات : الحفّازات اللمفية) وهي تستنفر البلاعم، وتُفعلها مناعياً لتبدأ بعملها في بلعمة الطفيليات أو الجراثيم والقضاء عليها.

- ولا ننسى في هذه العجالة أن ندرك بأن الخلية الجرثومية أو النسيجية لها مجموعة كبيرة من مستضدات متميزة ومتنوعة على سطحها، وكل منها يمكن أن يتكرر على السطح مراراً كثيرة، فمثلاً :

على سطح كرية حمراء واحدة لشخص من زمرة A+ : يوجد مئتان وخمسون مستضد A ، وثلاثمئة مستضد رِيصي D ، ومئتان وتسعون مستضد لويس ، وهكذا . . .

- كما يمكن لخلية جرثومية خائجة أن تنبه نَسائل عديدة من اللمفاويات على قدر نوع المحددات المستضدية الوافدة، ونحن نعبّر عن الجرثوم بأنه «مستضد» للتبسيط لا أكثر، في حين أنه حقيقة مجموعة متكررة ومتنوعة من المستضدات النوعية .

٢- النوعية : يمكن تشبيه النوعية فيما بين المستضد Ag من جهة وبين الأضداد المتشكلة Ab ، أو الخلايا المحسّسة، بشكل القفل والمفتاح، فلكل

قفل مفتاح معين، وكل مفتاح لا «يفتح» إلا قفلاً معيناً نوعياً له. (راجع الشكل).

ولنلاحظ معاً: القرابة المستضدية والأضداد المتصالبة المتشكلة، ومن الملاحظ في الاختبارات المناعية أنه عند حدوث التصلبات المناعية يكون الاتحاد بين الضد والمستضد ضعيفاً نسبياً، وبالتراكم المنخفضة عادة.

٣- الذاكرة المناعية: وهي الفارق الهام بين الشكل الفاعل والشكل المنفعل للمناعة النوعية.

قد تتكون خلايا الذاكرة المناعية (لمفاويات ت وب) أثناء الجواب النوعي التلازمي على منه مستضدي في ثوي ما.

- ففي الرد المناعي الابتدائي يمكن اكتشاف وجود الأضداد النوعية لأول مرة اعتباراً من اليوم الخامس بعد التنبه بالمستضد للمرة الأولى وبلغ الجواب المناعي (تركيز الأضداد) ذروته في اليوم الرابع عشر ثم يبدأ مستوى الأضداد بالهبوط ليصبح منخفضاً أو غير مقيس في غضون شهر أو شهرين. (انظر الشكل).

- وعندما تعطى زرقعة معززة (الدخول الثاني للمستضد نفسه) فإن البدن «المبرمج» والمستعد بها احتشد فيه من نائل خلايا الذاكرة النوعية، يكون رده المناعي الثانوي: أسرع وأقوى وأدوم من الأول:

● إذ تظهر مستويات أعلى من الأضداد باكراً خلال: ٤٨ - ٧٢ ساعة.

● وتتضاعف كمياتها لمدة أطول لتبلغ تراكيز أعلى وبنوعية أفضل، إذ يكون الارتباط بين الضد والمستضد أوثق مما هو عليه في الجواب المناعي الأولي.

● كما وتستمر المناعة لفترة أطول لمدة شهور وقد تبقى لسنوات... وهذا هو هدف اللقاحات ومبدؤها.

- ولكن: ليست كل المستضدات بقادرة على تهيج خلايا الذاكرة، إذ أنها أصلاً قد لا تكون خلايا ذاكرة عند دخولها الأول للبدن، ويبقى البدن يعاملها على أنها «مستضد» غريب لأول مرة مهما تكرر دخولها ثانية... (رد مناعي أولي دائماً).

ومثال ذلك: المستضد الجسمي (O) للسلمونيلة التيفية وبعض الحماح الراشحة، أو قل كافة المستضدات المركبة من عديدات السكاريد المخاطية L.P.S، وغيرها...

س - والآن، وبعد ما سبق، ماهي الأضداد؟ ($Ig = Ac = Ab$) .

الأضداد: هي بروتينات (غلوبولينات) تنشئها وتفرزها الخلايا المصورية، استجابة لمنبه مستضدي ما، وتشاهد الأضداد في المصل (الدم) - البول - السائل النخاعي - حليب الأم واللبأ (الصمغة) - العقد البلغمية - الطحال - مفرزات الأنبوب الهضمي - المفرزات القصبية...

- فالأضداد هي غلوبولينات مناعية، وتمتلك خصائصها، إذ تتألف من أربع سلاسل أمينية (عديدة الببتيد): اثنتان خفيفتان، معظمها K

(كابا) ٦٥٪، أو / (لدا) ٣٥٪، واثنان ثقيلتان تنضوي تحت خمسة أصناف رئيسية تعرف بالأحرف الإغريقية:

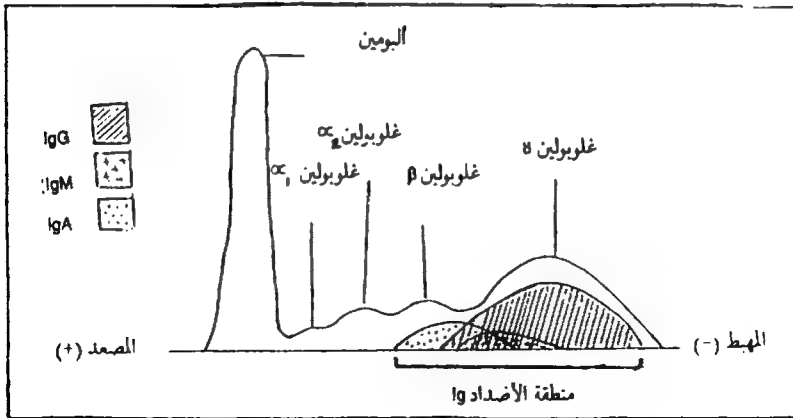
٤ (غاما) أو ∞ (ألفا) أو M (مو) أو δ (دلتا) أو ϵ (إبسيلون) ومن هذه السلاسل الثقيلة يستمد الغلوبولين المناعي اسمه على التوالي، فنقول بأنه من نوع:

IgG أو IgA أو IgM أو IgD أو IgE على التوالي.

- تتمتع الأضداد بخاصة الاتحاد النوعي مع المستضد الذي حثَّ على تركيبها.

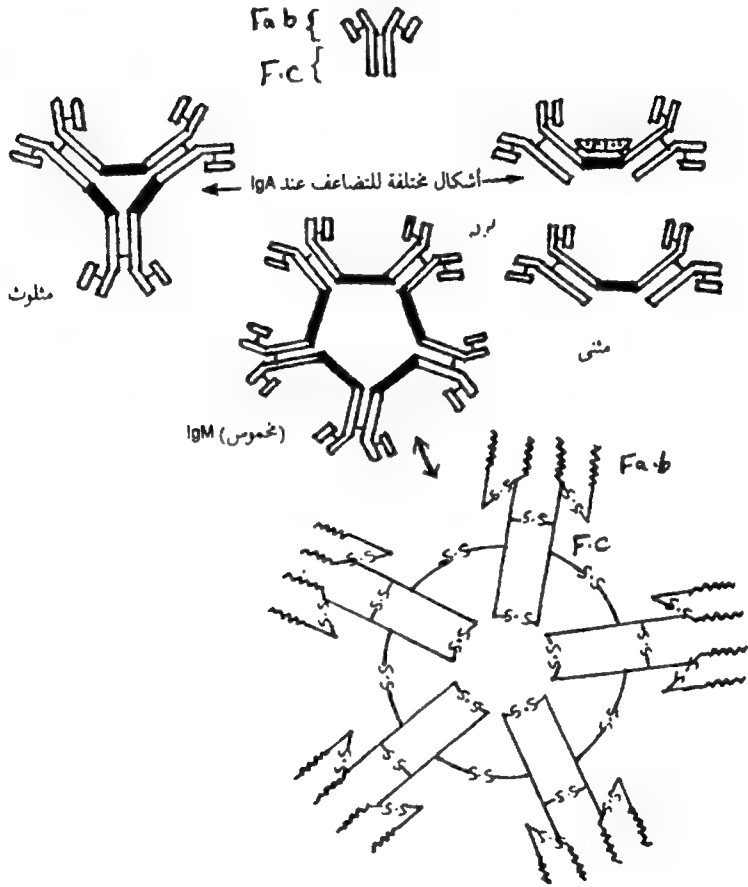
- كما قلنا سابقاً: تنشأ الأضداد وتفرز من قبل الخلايا المصورية

Plasma Cells بتواسط من البلاعم Macrophages، وعند إجراء رحلان كهربائي لبروتينات المصل، فإننا نشاهد غلوبولينات المصل في الجزء B و ٤ (انظر الشكل).



الشكل (٢٠) غطط الرحلان الكهربائي لبروتينات المصل الطبيعي « لاحظ موقع الغلوبولينات المناعية فيه .

- أظهرت الدراسات أن الغلوبولينات المناعية Ig على خمسة أصناف وتسمى وفق اسم السلسلتين الثقيلتين الداخلتين بالتركيب:



تمثيل تخطيطي مبسط جداً يوضح البنية الخشائية للغلوبولين المناعي الكبري (IgM) (الأكثر قدرة على الاتحاد مع المستضدات. تكافؤه ١٠ أو ١٠٠)

الشكل (٢١): تمثيل تخطيطي مبسط جداً لجزئيات الغلوبولينات المناعية في المصل (IgG أو IgA (موحد) أو IgM

١- الصنف IgG : وهو الغلوبولين الأوفر في المصل (٧٥٪ من غلوبولينات المصل) وتكافؤه المستضدي ٢ (موجود).

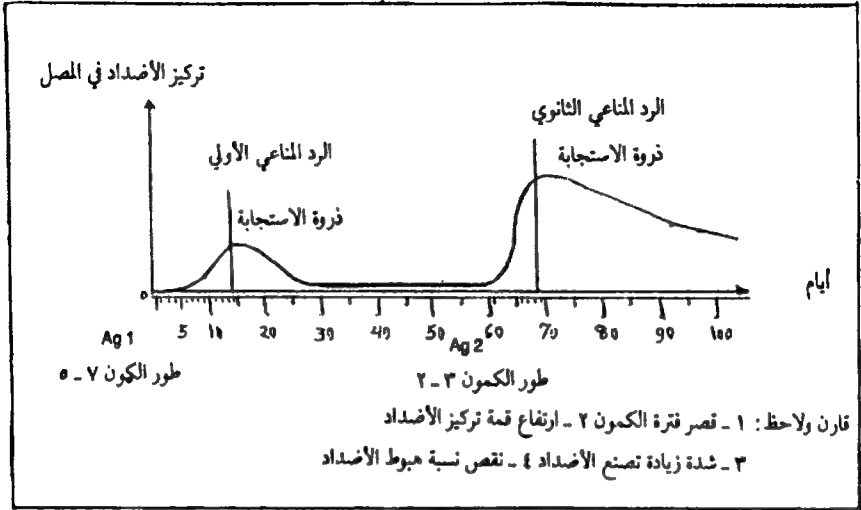
٢- الصنف IgM : وهو الغلوبولين الكبري (الضخم) بالمصل ، بكمية أقل بكثير من سابقه وتكافؤه المستضدي ٥ أو ١٠ (مخموس).

٣- الصنف IgA : مسؤول أساساً عن مناعة المفرزات الحيوية في الجسم : مثل اللبأ (الصمغة) - مفرزات القصبات - مفرزات الأمعاء - الدموع . . . وذلك بنوعه الإفرازي المضاعف ، تكافؤه المستضدي ٢ أو ٤ أو ٦ حسب تضاعفه (موجود أو ثنائي أو مثلوث).

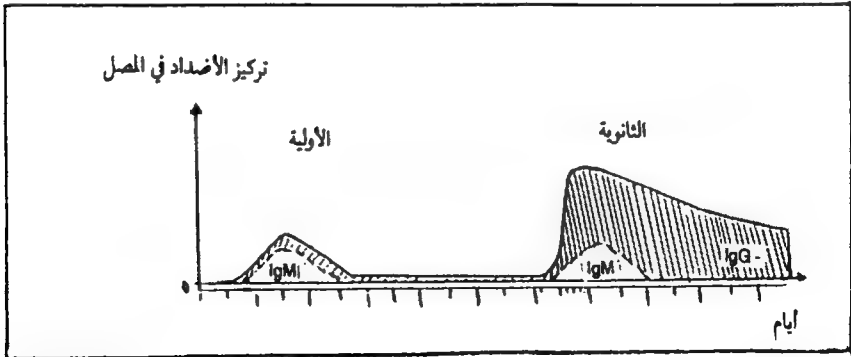
٤- الصنف IgE : تركيزه قليل ، غير أن له دوراً كبيراً جداً في آليات فرط الحساسية الآني (التاق) - نوب الربو - الشرى الجلدي . . . وهو ينجذب إلى الخلايا البدينة والأسسة المتواجدة في الأنسجة وحول الأوعية . (موجود).

٥- الصنف IgD : تركيزه ضئيل جداً في المصل ، ودوره المعروف إلى الآن كونه مستقبل على سطح الخلايا اللمفاوية . (موجود).

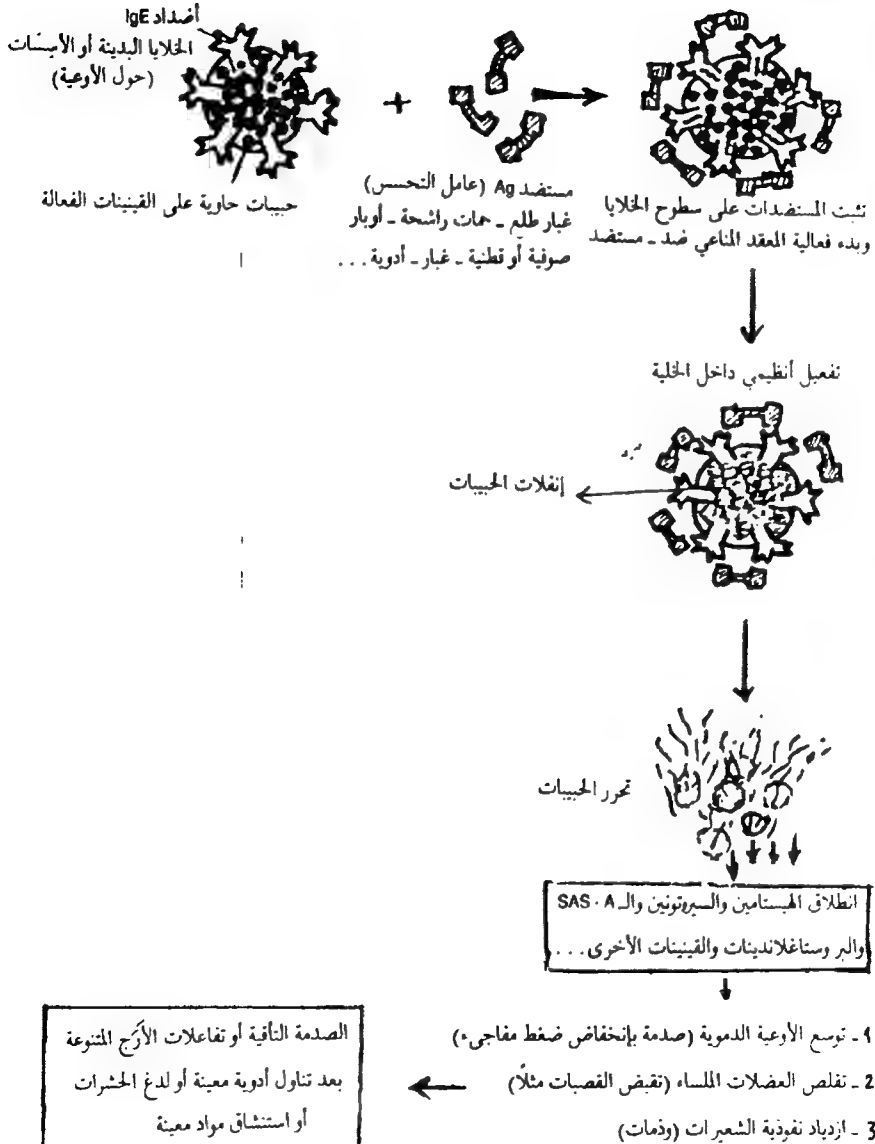
● عند دخول المستضد Ag للبدن فإن أول غلوبولين مناعي يزداد تركيزه هو IgM النوعي ويظهر باكراً في بداية الرد المناعي الخلطي في اليوم (٣ - ٥) من دخول المستضد ، ويصل لتركيزه الأعظمي في اليوم (١٠ - ١٤) تقريباً ، وهو قصير الأجل ، إذ يبدأ بالتراجع تدريجياً ليحل محله الـ IgG منذ اليوم العاشر تقريباً (راجع الشكل).



الشكل (١٨): مخطط مبسط للإستجابة المناعية الأولية والثانوية عقب دخول المستضد المتكرر



الشكل (١٩) مخطط مبسط لمستويات الأضداد IgG و IgM في الإستجابة المناعية الأولية والثانوية، عقب الدخول المتكرر لنفس المستضد



الشكل (٢٢): مخطط مبسط يوضح دور IgE في النمط التأقي من تفاعلات فرط الحساسية

- يمكن لنا أن نعدّ الغلوبولينات المناعية Ig مستضدات فيما إذا حُقنت لبدن آخر، وهنا تتكون أضداد نوعية مضادة لـ Ig (Ig Anti Ig) .

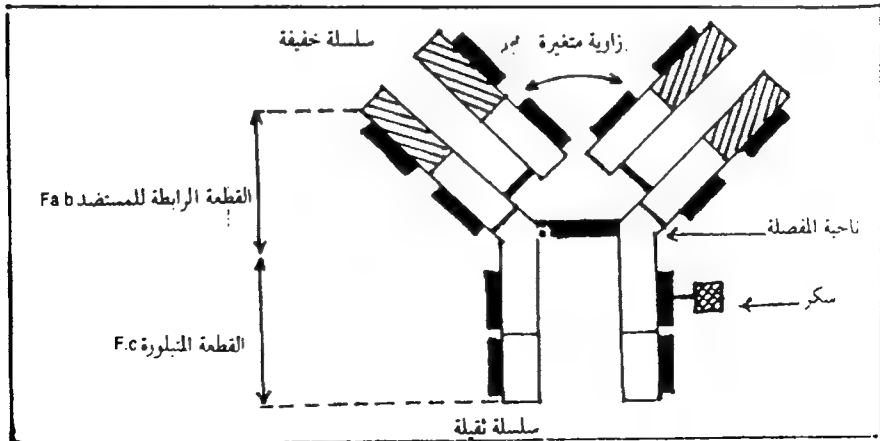
الغلوبولين المناعي	الصفة الجزيئية	الحالة الفيزيولوجي	معامل التنفل	التكافؤ (عدد المواضع الرابطة للـ مستضد في الجزيء)	الوزن الجزيئي	الموسط الكهلي بالصل
IgG	$\gamma_2 K_2 - \gamma_2 \lambda_2$	موجود	SV	٢	١٦٠.٠٠٠	١٣٢٠
AqA المصلي	$\alpha_2 K_2 - \alpha_2 \lambda_2$	مواحد	SV	٢	١٧٠.٠٠٠	
الإفرازي	$\alpha_4 K_4$ و $\alpha_4 \lambda_4$ $\alpha_6 K_6$ و $\alpha_6 \lambda_6$	ثنائي مثاليث	١١-١٣S	٤ ٦	٣٨٥٠.٠٠	١٦٠
IgM الكبري	$\mu_{10} \lambda_{10}$ $\mu_{10} K_{10}$	خمس	١٩S	١٠-٥	٩٠٠.٠٠٠	٩٠٠
IgD	$\delta_2 \lambda_2$ $\delta_2 K_2$	موجود	٧S	٢	١٨٤.٠٠٠	١٠٠
IgE	$\epsilon_2 \lambda_2$ $\epsilon_2 K_2$	مواحد	٨S	٢	١٨٨.٠٠٠	٠.٣

الشكل (٢٣): جدول الخصائص الحيوية والفيزيائية لأصناف الغلوبولينات المناعية Ig

أدوار الغلوبولينات المناعية عبر حياة الطفل :

- تكون مستويات الـ IgM في الطفولة الأولى (الولدان والرضع) منخفضة جداً، مع نقص مستويات المتمة C (راجع بحث المتمة) Complement وتكاسل فعل البلعمة، وكل ذلك يساهم في زيادة قابلية الطفل للخمج بسليبات الغرام ويصل الـ IgM لمستوياته الكهلية في غضون الأشهر التسعة الأولى من العمر.

- يقوم الـ IgG الذي تقدمه الأم لوليدها عبر اللبأ، بالدفاع عن الرضيع، وهو لذلك يؤخر بشدة قيام الرضيع بصنع أضداده الخاصة من نوع IgG في الأشهر الثلاثة الأولى من الحياة، ثم لا يلبث الجواب المناعي للرضيع أن ينضج بعدها، وها هنا تبدأ برامج التلقيح الوقائي عادة، ويستغرق الصغير حتى السنة الثالثة من عمره لتصل IgG عنده إلى المستويات الكهلية.



الشكل (٢٤) : تمثيل تخطيطي مبسط جداً لبنية الغلوبولين المناعي (IgG)

(الأكثر وفرة في المصل ٧٥٪ تكافؤ : ٢)

جُملة المتَمِّمة Complement System

تتألف جملة المتَمِّمة C من زمرة معقدة من الأنظيمات في مجرى الدم وتُرَقَّم مقوماتها من C1 - C9 بالأرقام العربية ، تجول هذه البروتينات في الدم بشكل عاطل ، وثمة طريقتين رئيسيتين يمكن بهما تفعيل جملة بروتينات المتَمِّمة هما :

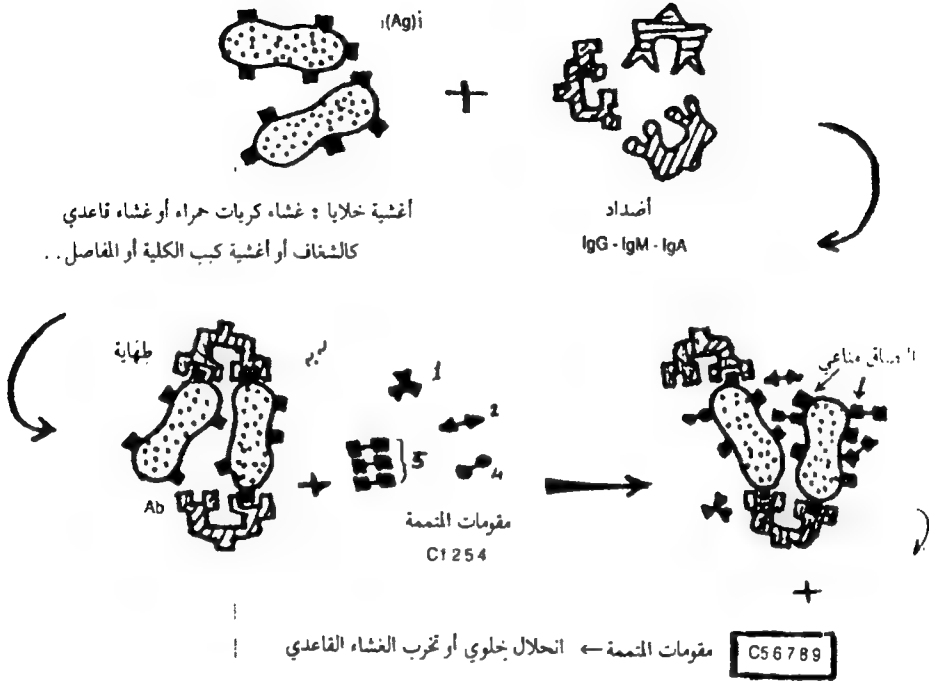
١ - السبيل التقليدي :

إن أي ضد من IgM أو IgG قادر على تفعيل المقوم الأول C1 في جملة المتَمِّمة ، وعندئذ تبدأ أحداث المتَمِّمة بالتلاحق بتفعيل الأجزاء التالية بالترتيب تقريباً حتى الجزء الأخير (شلال متممي) ، وكل نواتج التفعيل والشطر تتعاون بدورها في أن تسبب إستهاجة التفاعل الإلتهابي وتضخمه أكثر فأكثر بواسطة آليات هامة هي :

أ - إطلاق التُّاق : إذ ينطلق المستامين وسائر القينينات من الخلايا البدنية Mast C ، وهذا ما يسبب التوسع الوعائي وازدياد النفوذية الوعائية وتقبض القصبات . . . كل هذا بسبب تفعيل جملة المتَمِّمة .

ب - إطلاق عوامل الجذب الكيماوي : فتسبب جذب كثيرات النوى وسائر الخلايا الالتهابية إلى مكان التفاعل الالتهابي .

ج - التصاق أجزاء من المتَمِّمة على سطوح الخلايا المستهدفة : وبالتالي تحريض التصاق البلاعم وكثيرات النوى بها ومن ثم بلعمة المعقدات المناعية (ضد - مستضد - متممة) : والخلية المستهدفة قد تكون :



ما أن تثبت الغلوبولينات المناعية Ab على المستضدات الموجودة على سطوح الخلايا حتى تستثار آلية الطهاية وتحترق مقومات النعمة في حدث الإلتصاق المناعي وزيادة فعل البلعمة .
إن تفعليل النعمة على الأغشية القاعدية (للكلية مثلاً) يؤدي إلى حدوث تفاعل التهابي وإرتشاح بكتيريات النوى وإطلاق أنظيمات حالة للبروتينات تحرب الغشاء القاعدي والغشاء الخلوي مؤدية إلى الانحلال الخلوي .

الشكل (٢٥) : مخطط مبسط لآليات الإنحلال الخلوي وتحرب الأغشية في أمراض المناعة الذاتية
مثل : الرتية المفصالية - التهاب كب الكلى - التهاب المفاصل الرثياني - الذئبة الحمامية ...
لاحظ تورط النعمة بالأحداث المناعية

جرثوماً أو حمة أو خلية سرطانية أو غشاء قاعدياً لوعاء دموي أو لكعب الكلية أو المفصل .

د - تخرب سطح الخلية المستهدفة : أو الغشاء القاعدي المستهدف .

٢ - السبيل البديلة :

(سبيل البر وبردن) : يمكن أن يتم تفعيل بعض مقومات المتممة من C3 مباشرة (مع تحاشي الـ C1, C2, C4) ثم تتابع بعدئذ نفس المراحل التالية في السبيل التقليدي .

س : ماهي المواد التي تستطيع استهاجة المتممة بالسبيل البديلة؟

- يمكن لكثير من المواد أن تفعل المتممة بالسبيل البديلة، مثل :
عديدات السكاريد الشحمية L.P.S * التي تؤلف الذيفانات الداخلية للجراثيم سلبية الغرام، الإيتولين، الغلوبولينات المناعية المتكتلة، عامل زعاف الأفعى، والزييموزان في جدران الخميرات، بعض نواتج المتممة بالسبيل التقليدي (C3b) أيضاً .

* L.P.S : عديدات السكاريد المخاطية هي التي تدخل في بنية الجدار الخلوي للعصيات سلبية الغرام، مثل السلمونيلة التيفية ونظائرها B.A. . وهي نفسها المستضد الجسمي (O) للجراثيم، ولا يظهر الفعل السمي للجدار الخلوي (ذيفان داخلي) إلا عند موت الجراثيم، وانحلاله . (ر : أجزاء الجراثيم الرئيسية) .

س : ما هي الأهمية الحيوية لجملة المتممة؟

- إن العوامل الممرضة الغازية Ag (جراثيم - فطور - حمات - خلايا) تهاجم كلها من قبل جملة المتممة حالما تقوم الأضداد Ab النوعية بالتفاعل معها وتُفَعِّلُ المتممة بالسبيل التقليدي (تشكل المعقد C - Ab - Ag).

- أما في المراحل الأولى من الأحماج البدئية، حيث لا تكون الأضداد قد تكونت بعد، فيمكن لبعض المواد الأخرى الممرضة في البدن (ذيفان داخلي . . L.P.S . .) أن تفعل المتممة بالسبيل البديلة.

* من الدلائل على تورط المتممة بالأحداث المناعية، نقص كميتها بالمصل: ففي حالات التهاب غشاء الكبد الكلوية مثلاً تنقص المتممة C3 بالذات في المصل لأنها «تستهلك» بالترسب على غشاء الكبد (المعقد C3 - Ab - Ag) وكذلك تستهلك متممة سائل المفصل المصاب بالتهاب المفصل الرثياني الحاد إذ نجد نقصاً واضحاً في عيار: C3, C4 في السائل المفصلي.

خلاصة المناعة الخلطية (بالغلوبولينات المناعية Ig)

وتحدث:

* بالتعاون مع اللمفاويات - ت - T-Lymphocytes - المؤازرة ومقومات المتممة \bar{C} :

أ - تضطلع بالمناعة الفاعلة ضد:

* أخماج الجراثيم السريعة النمو المنتجة للذيفان: (العنقوديات - العقديات - محبات الدم - السلمونيالات - البروسيالات - الأمعائيات - الكزاز - الخناق...).

* جزء القفيصة (Capsid) من الحمات الراشحة: (الجدري - شلل الأطفال...).

* بعض الطفيليات: (المصورات القوسية Toxoplasma - الشوكاء الحبيبية Eschinococcus) (الكيسة المائية) - المتحولات الزحارية خارج الأمعاء...).

ب - قد يستثير المستضد رداً مناعياً خلطياً ثانوياً (بدخوله الثاني أو أكثر)، وقد لا يستثير إلا رداً مناعياً أولياً مهماً تكرر دخوله (مثل L.P.S. وبعض الحمات...).

ج - قد تكون سبباً لأذية العضوية (فرط التحسس العاجل: Immediate Hypersensitivity): نوب الربو بتوسط IgE، الصدمة التأقية Anaphylactic Shock عقب حقن: البنسلين أو الدواء أو عقب لدغ

الحشرات مثلاً...).

د- نتحرى عنها بكشف وعبارة الأضداد المتشكلة، بالزمن الملائم
(تفاعلات التراص - تفاعلات التعديل - تفاعلات التآلق المناعي -
تفاعلات الانتشار المناعي - المقايسة الحثائية E.i.A والشعاعية R.i.A . . ر):
مبادئ التفاعلات بعد قليل .

خلاصة : المناعة الخلوية (المتواسطة بالخلايا)

وتحدث : بتشكيل خلايا لمفاوية - ت - فاتكة مع اللمفوكينات ، مع إشرافها وقيادتها للبلاعم الكبار (خلايا محسّسة مقتدرة مناعياً) :

★ - تضطلع بـ :

١ - مقاومة الجسم للأخماج بالعوامل المرضية التي تنمويبطء داخل الخلايا (بالتعاون مع الأضداد الخلطية) مثل :

* أخماج الحُمات : (الحصبة - النكاف - الجدري - الحماق - الحلا المنطقي - الحلا البسيط)، الأنتر فيرون يمنع إنشاء بروتينات الحماق في الخلايا المخموجة . . .

* أخماج الأولي : (الليشمانيا - المصورات القوسية . . .) .

* أخماج الفطور : (المبيضات البيض - الرشاشيات . .) .

* أخماج الجراثيم : (المتفطرات السلية والجذامية - السلمونيالات - البروسيالات - الإفرنجي . .) .

٢ - نبذ الخلايا الورمية الطافرة المتشكلة (الترصد المناعي :

(Immuno Surveillance).

٣ - التحساس الأجل Delayed Hypersensitivity بتخرب النسيج بعد

٢٤ - ٤٨ ساعة من التماس بمستضد سبق أن تحسس له المرء (تفاعل السلين تفاعل الجذامين - أمراض المناعة الذاتية - إلتهاب الجلد بالتهاس . . .) .

٤ - تنظيم الجهاز المناعي : (لمفاويات - ت - مؤازرة وأخرى كابتة...).

ب ★ - نتحرى عن المناعة الخلوية باختبارات دقيقة : (تعداد البيض مع الصيغة ودراسة الأشكال - التفاعلات الجلدية - اختبارات وظائف اللمفاويات وهجرة الوحيدات - نبذ الطعم الجلدي...).

الفصل الثاني

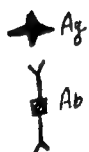
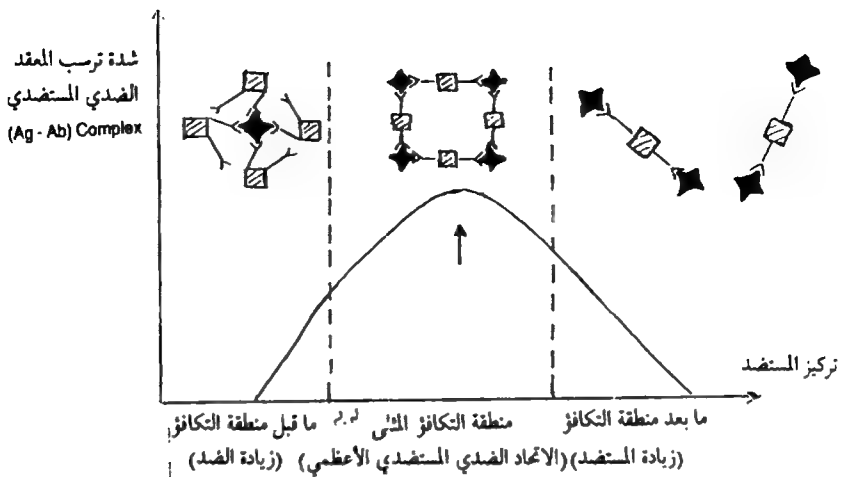
مبادئ التفاعلات المناعية

Immunological Reactions Principles

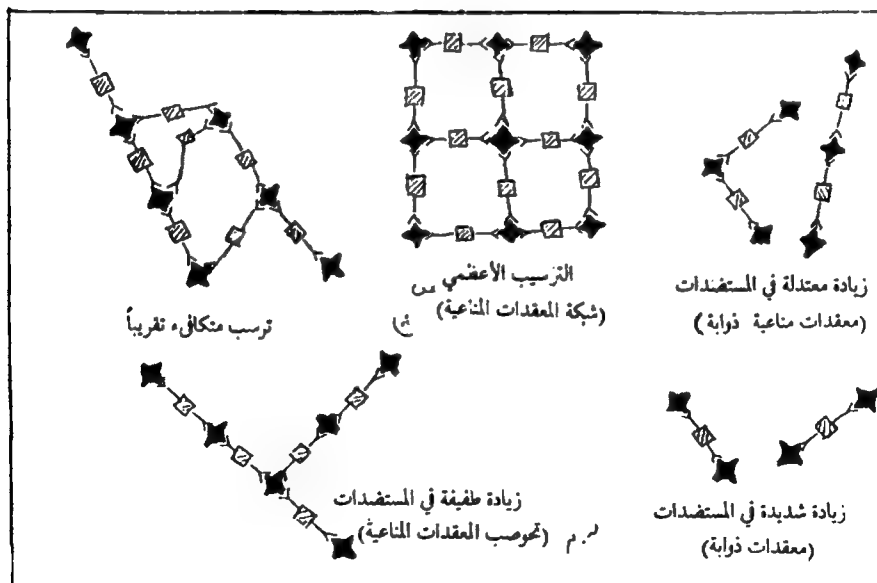
يشكل ارتباط المستضد مع الضد المرافق أساس الغالبية العظمى من التفاعلات المناعية، وإن كان هذا الارتباط لا يتم بصورة بسيطة دائماً، غير أن هناك عوامل فيزيائية عامة يجب مراعاتها عند إجراء الاختبارات المناعية: كمراعاة درجة باهاء الوسط PH، والرطوبة والملوحة ودرجة الحرارة، والتراكيز المناسبة بين المحددات المستضدية والمحددات الضدية النوعية الموافقة لحصول التراص الأعظمي (Ab - Ag) . .

- في كثير من تفاعلات التراص المباشر أو اللا مباشر على الصفيحة، تكون درجة الحرارة المناسبة هي درجة حرارة الغرفة (٢٠°م - ٢٥°م) أو ٣٧°م، ونضبط الـ PH المطلوبة في تفاعلات التراص على الأنابيب أو بالطرق الأكثر تعقيداً، بإجراء الاختبار ضمن وقاء* مناسب Buffer (دائرة تقدم درجة معينة للحموضة)، كما أن مدة الحضان والرطوبة ونظافة الأدوات التامة كافة، والإضاءة، وأسلوب قراءة التراص أو الترسيب . . . كلها عوامل لا بد من التقيد بها للحصول على الأجوبة الأقرب للدقة.
- كذلك يجب التأكد من خلو المستحضرات من التلوث الجراثيمي،

* الوقاء = الدائرة = Buffer



شكل (٢٦): يمثل المنحنى الكمي لترسب المعقدات المناعية (ضد - مستضد) مع ظاهرة المنطقة



الشكل (٢٦) تابع أشكال تمثل شكل المعقدات المناعية (ضد - مستضد) تبعاً لتركيز الأضداد والمستضدات

ومن حسن حفظها في البراد ($^{\circ}2\text{ م} - ^{\circ}6\text{ م}$) ، وكل ذلك بعد إمرار شواهد إيجابية (+) وشواهد سلبية (-) عليها للتحقق من جودتها Controls .

- تحدث الدرجة العظمى بالتراص عندما يكون هناك تناسب جيد بين المُحدّدات المستضدية والروابط الضدية ، واختلاف التناسب فيما بينها قد يُجِلُّ بإظهار التراص ، وهذا ما نسميه بـ «ظاهرة المنطقة» Zone Phenomenon سواء بطغيان كميات المستضد على كمية الضد ، أو بالعكس . (انظر الشكل رقم ٢٦) .

- عندما نظن حدوث ظاهرة المنطقة بزيادة تركيز الأضداد ، نلجأ إلى تمديد مصل المريض المتحرّى بما يلائم : (بالمصل الفيزيولوجي أو بالوقاء المناسب) .

* تفاعلات التراص Agglutination Test :

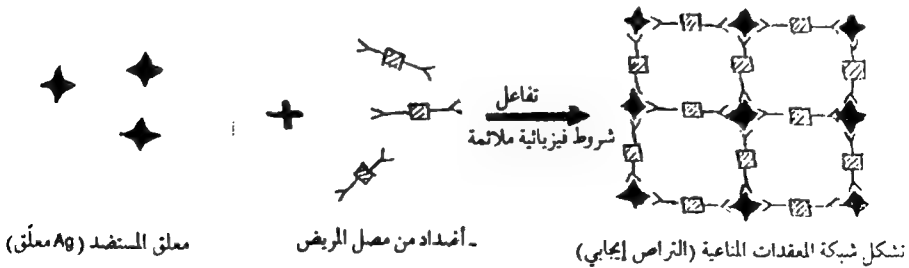
- عند تماس مُعلَقَّ بحوي المستضد (مولد الضد Ag) مع مصل المريض الحاوي على الأضداد النوعية ، تظهر كتلة كبيرة أو صغيرة واضحة عيانياً أو مجهرياً ، ويتبع ذلك حدوث صفاء الوسط الأصلي (المعلَق) هذه الكتل هي معقدات (ضد - مستضد) نسميها : بكتل التراص ...

- تتمتع تفاعلات التراص عموماً بالبساطة، وبالحساسية المقبولة، ويمكن أن تُجرى على الصفائح الزجاجية الشفافة أو السوداء العاتمة أو صفائح اللدائن ذات الأبار المتماثلة الصغيرة، أو على الأنابيب، وعادة ما نستعمل كميات من المستضد في اختبارات الأنابيب أكبر منها في اختبارات الصفائح الزجاجية، والتي بدورها أكبر من كميتها على صفائح اللدائن ذات الأبار. ولكل نوع من الاختبارات حساسية معينة مع تقييم خاص به. أنواعها: يمكن لتفاعلات التراص أن تكون على نوعين:

أ - التراص المباشر:

وهذا ما يحدث عندما يتم التفاعل بين الضد والمستضد المعلق مباشرة، دون واسطة ولا حامل (حصول شبكة المعقدات المناعية مباشرة) بحصول كتلة أو كتل متعاطمة، واضحة عياناً أو مجهرياً.

وأمثلته: تفاعل فيدال على الصفيحة أو في الأنابيب، تفاعل رايت على الصفيحة أو في الأنابيب، كشف ومعايرة أضداد المصورات القوسية بالصفيحة ذات الأبار - اختبارات الزمرة الدموية ABO و RH (الشكل).



الشكل (٢٧): مبدأ اختبارات التراص المباشر

ب - التراص اللا مباشر:

ويطبق على المستضدات المنحلة الذوابة، بعد تثبيتها على سطح بعض الذرات الحاملة العاطلة مناعياً Carriers ، مثل كريات اللاتكس* .
Latex ، الكريات الحمراء ، البانتونيت . . .

يتم التفاعل بين الضد والمستضد هنا بوجود ذلك الحامل العاطل ، الذي لا علاقة له بالتفاعل المناعي بالذات ، بل ينحصر دوره بإظهار التفاعل عياناً لتسهيل قراءته (انظر الشكل) .

- يتم العمل على : صفائح سوداء ، وبإضاءة أمامية علوية بيضاء .
تجنب الجفاف .

- إن تفاعلات التراص اللا مباشر هي أكثر حساسية عادة من تفاعلات التراص المباشر .

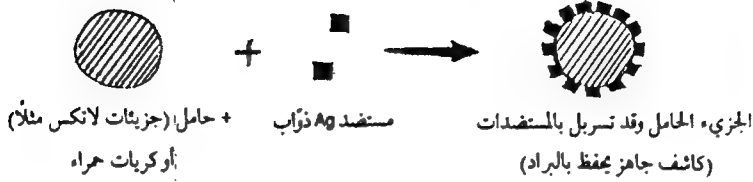
- من أمثلة تفاعلات التراص اللا مباشر:

* - جزيئات اللاتكس : هي مكثف لجزيئات البوليسترين الأحادية (نوع من اللدائن) ، وهي كريات صغيرة مجهرية بقطر ١ ميكرومتر تقريباً ، تتقبل تثبيت المستضدات عليها بشكل كبير جداً ، كما أن لها سطحاً واسعاً للتثبيت ، إذ أن كرية لاتكس واحدة مثلاً تثبت حوالي 75000 جزيء غلوبولين مناعي (ضد) .

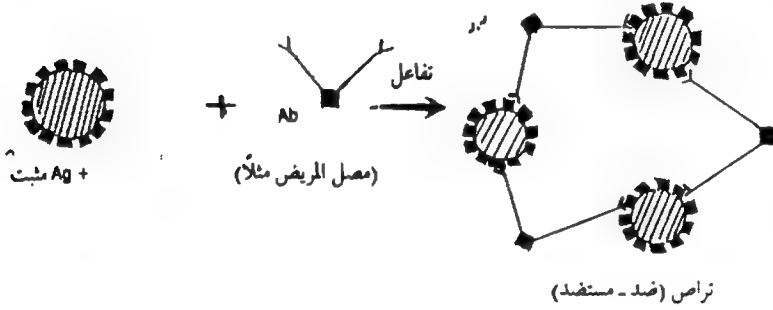
حذار من تجميد أي كاشف يحوي كريات اللاتكس لثلا يتخرب ، وإنها يحفظ بالبراد (٢) -

٢٠٦ .

١ - عملية تجهيز الكاشف (الشركة):



٢ - في المختبر: على الصفيحة أو على الأنابيب



الشكل (٧٨): مخطط مبسط للتراص اللا مباشر على الصفيحة

أ - التراص الدموي اللا مباشر (على الكريات الحمراء المجهزة): مثل:

١ - اختبار وولر روز لكشف ومعايرة العامل الرثياني R.F.

٢ - كشف العامل الأستراي (حمة إلتهاب الكبد المصلي).

ب - تراص اللاتكس اللا مباشر: كشف ومعايرة ال RF - كشف ال CRP -

كشف وعيار ASLO - اختبارات الحمل - كشف العامل الأستراي ...

ج - نهي التراص اللا مباشر: اختبارات الحمل ...

* تفاعلات التعديل : Neutralization Reactions.

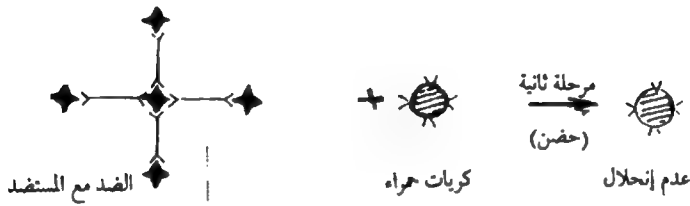
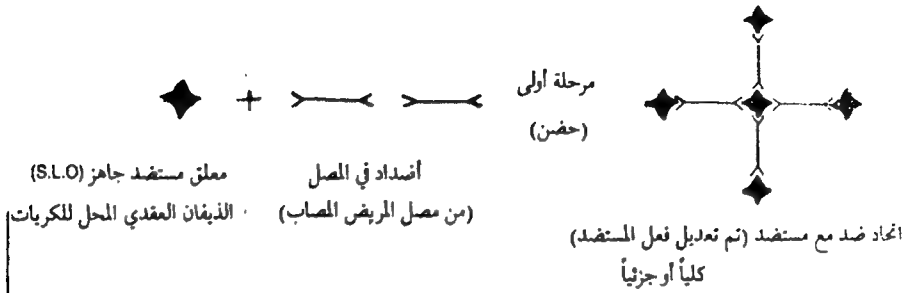
المبدأ : إن ارتباط الضد مع المستضد (تشكل المعقد المناعي Ag - Ab) ينقص أو يغيّب خاصية حيوية للمستضد .

فإذا أخذنا الحالة العقدية Streptolysine كمستضد وهي التي تقوم بحلُّ الكريات الحمراء (خاصة حيوية) فإنها ما إن تتحد مع أضداد نوعية مضافة، حتى تُسلب خاصية حل الكريات الحمراء، وهذا دليل على وجود الأضداد بالمصل أصلاً (انظر الشكل) .
الأمثلة :

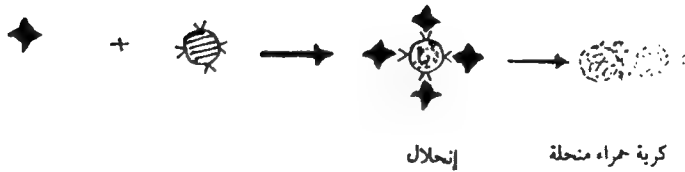
١ - كشف وعيار أضداد الحالة العقدية ASLO .

٢ - تفاعلات نهبي التراص الدموي للحمات الراشحة (كحمة الحصبة الألمانية)؛ بعض أنواع الحمات الراشحة تتمتع بالقدرة على رَصُّ الكريات الحمراء لمختلف الأنواع الحيوانية تلقائياً (لوجود الرأصة الدموية في جزء القفيصة من الحمة) ؛ لذلك فإن مصول المرضى الحاوية على أضداد حمة الحصبة الألمانية تثبّط تراص الكريات الحمراء هذه (نهبي التراص) .
نُلغني مفعول المتمة C حتى لا تتداخل في هذا التفاعل، بحضن مصل المريض بالدرجة ٥٦° م لمدة ٣٠ دقيقة، وبذلك نُبعدها عن الفعالية المناعية، وهذا مانسميه عملية: (تخريب المتمة) .

١ - وجود الأضداد:



٢ - غياب الأضداد:



الشكل (٢٩): مبدأ تفاعلات التعديل مثال: كشف وعيار A.S.L.O

* تفاعل تثبيت المتممة : Complement Fixation Test

يمكن للمتممة الحرة \bar{C} أن تحل الكريات الحمراء لوحدها في وسط التفاعل؛ ولكن، وقبل إضافة الكريات الحمراء إلى وسط التفاعل، نضيف مصل المريض (أضداد) مع المستضد المعلوم، فإذا تشكل المعقد المناعي ضد - مستضد (Ag - Ab)، قام بتثبيت المتممة الحرة \bar{C} معه : فاستهلاكها (C - Ab - Ag)، وهكذا يمكننا التحري عن استهلاكها بإضافة الكريات الحمراء في الطور الثاني للتفاعل :

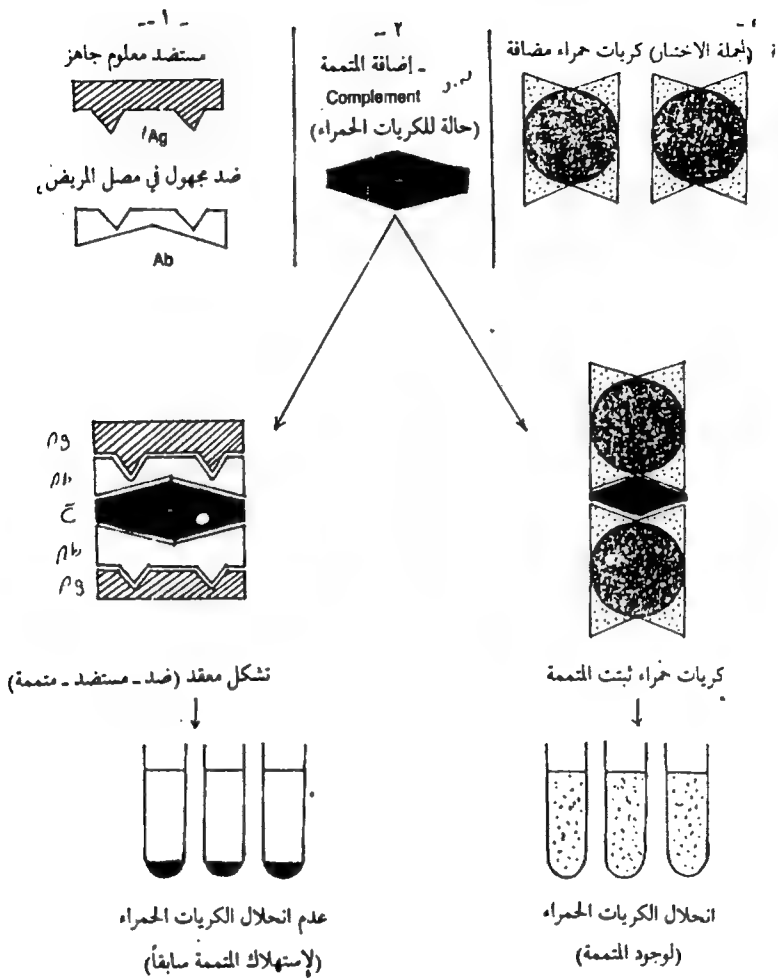
١ - ففي حال حدوث انحلال للكريات الحمراء فإن هذا دليل على بقاء المتممة حرة وعدم استهلاكها (عدم تشكل ضد - مستضد أصلاً لغياب الأضداد).

٢ - وفي حال لم يحدث أي انحلال للكريات الحمراء فإن هذا دليل على استهلاك المتممة بالطور الأول (وبالتالي تشكل Ag - Ab لوجود الأضداد). هذا التفاعل له حساسية ونوعية فائقتان .
الأمثلة :

- تحري وعيار أضداد المصورات القوسية Toxoplasma Antibodies .
titer

- تحري وعيار أضداد الكيسة المائية (Eschinococcus Antibodies titer)

- تحري وعيار أضداد الكثير من الحماة الراشحة والمفطورات .
والمتدثرات .



الشكل (٣٠): مبدأ تفاعل تثبيت المتممة.

* تفاعلات الانتشار المناعي :

(أو تفاعلات الترسيب في وسط هلامي) Immuno-Diffusion:

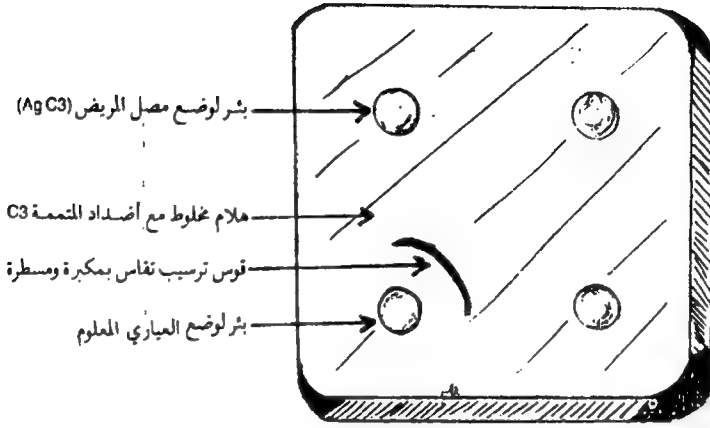
نستعمل في هذه التفاعلات وسطاً هلامياً (غراء) يسمح لجزيئات الضد والمستضد بالتفشي فيه دون أن تتغير خواص تلك الجزيئات ، وما إن تنتشر حتى تتلاقى فيما بينها ضمن الهلام ، ويتظاهر هذا اللقاء الضدي - المستضدي بتشكّل خطوط أو «أقواس ترسيب» ضمن الهلام ، واضحة بالعين المجردة أو بالمكبرة ، ولا تحدث هذه الأقواس إلا في المناطق التي تتناسب فيها تراكيز الأضداد مع المستضدات . وبهذا الشكل يمكن لنا كشف وعيار المستضد المجهول (أو الضد المجهول) .

- ترتبط هذه الطريقة ارتباطاً وثيقاً بحركية الجزيئات وحجمها وشحنتها الكهربائية وبزمن الانتشار ، والتراكيز الموجودة للمواد ضمن الهلام ، وكذلك الباهاء PH ورطوبة الوسط وحرارته .

- تصنف هذه التفاعلات إلى :

أ - تفاعلات الانتشار المناعي البسيط :

إذ يكون الهلام ممزوجاً سلفاً بالأضداد Ab النوعية المتجانسة التركيز . ولتدبر المثال التالي : سنفترض أن الهلام قد مُزج سلفاً بأضداد المتممة (مثلاً) Anti C3 ، يوضع في الحفرة الجاهزة ضمن الهلام كمية معينة من مصل المريض المخسر عنه (عندما يكون المطلوب كشف وعيار الـ C3 بمصل المريض Ag) : سيتفشى مصل المريض (الحاوي على C3) خلال



الشكل (٣١): الانتشار المناعي البسيط على الهلام.

زمن معين، ويُشكّل أقواس الترسيب، التي تقارن بدورها مع شواهد
 عيارية لاستنتاج تركيز المتممة بالمصل، بمسطرة دقيقة.
 أمثلة الاختبار:

- عيار المتممة بالمصل $C3$, $C4$ ، عيار الغلوبولينات المناعية IgM - IgG

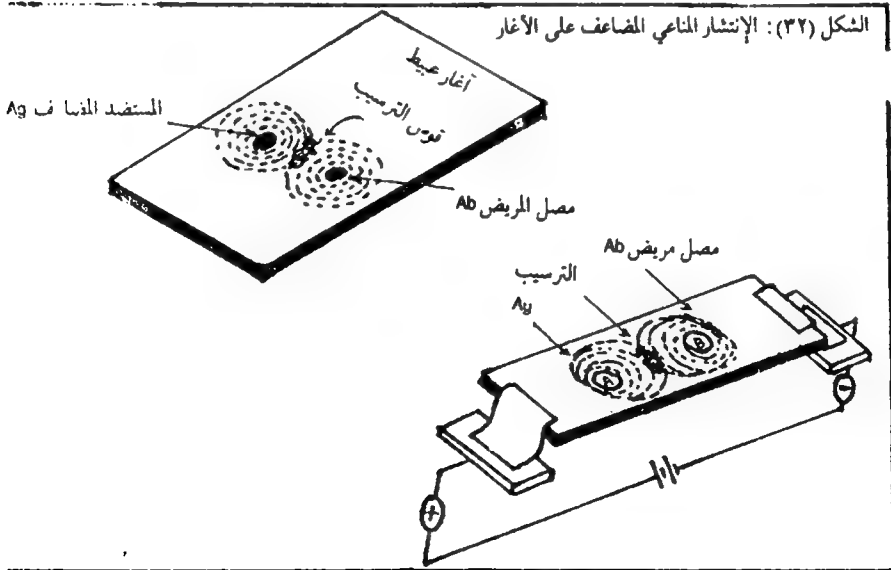
- عيار α فيتوبروتين . .

ب - تفاعلات الانتشار المناعي المضاعف:

ويكون الهلام هنا خالياً من الأضداد (عاطلاً)، ويوضع Ag (مصل المريض) في حفرة معينة والـ Ab (جَاهَن) في حفرة أخرى مقابلة، سينتشر الاثنان ضمن الأغار خلال فترة معينة وسيتلاقيا ويترسبا في المنطقة التي يتناسب فيها تركيزاهما تناسباً مناعياً، مُشكِّلين قوساً ترسيبياً يُقارن مع أقواس عيارية أخرى.

يمكن تسريع هذا الاختبار بتطبيق تيار كهربائي مناسب فنحصل على الانتشار المناعي المضاعف المُسرَّع بالكهرباء.

- هناك تطبيقات أخرى أكثر تعقيداً في طرق الانتشار المناعي وهي تهدف إلى السرعة والدقة والنوعية والحساسية الأفضل.



الشكل (٣٢) تابع: الانتشار المناعي المضاعف على الأغار المُسرَّع بالكهرباء

تفاعلات التآلق المناعي : Immuno - Fluorescent

* المبدأ :

يمكن إستهآجة ذرات بعض المواد بتسليط الأشعة فوق البنفسجية عليها، وهذا ما يؤدي إلى إصدار إشعاع وامض متآلق منها، وهو يستمر ما استمرت الأشعة مُسلَّطةً. وهذا هو المبدأ الفيزيائي الذري للتآلق.

- يُكشِف هذا الشعاع الصادر بمجهر خاص هو «المجهر الومضاني» المزود بالأشعة فوق البنفسجية كمصدر للطاقة (لمبة زئبق) مع منبع ضوئي عادي ومراشح.

إن المواد المتآلفة الأكثر استعمالاً هي :

* إيزوثيوسيانات الرودامين (تآلق برتقالي مُحمر).

* إيزوثيوسيانات الفلورسئين (تآلق أخضر مصفر فاقع) . .

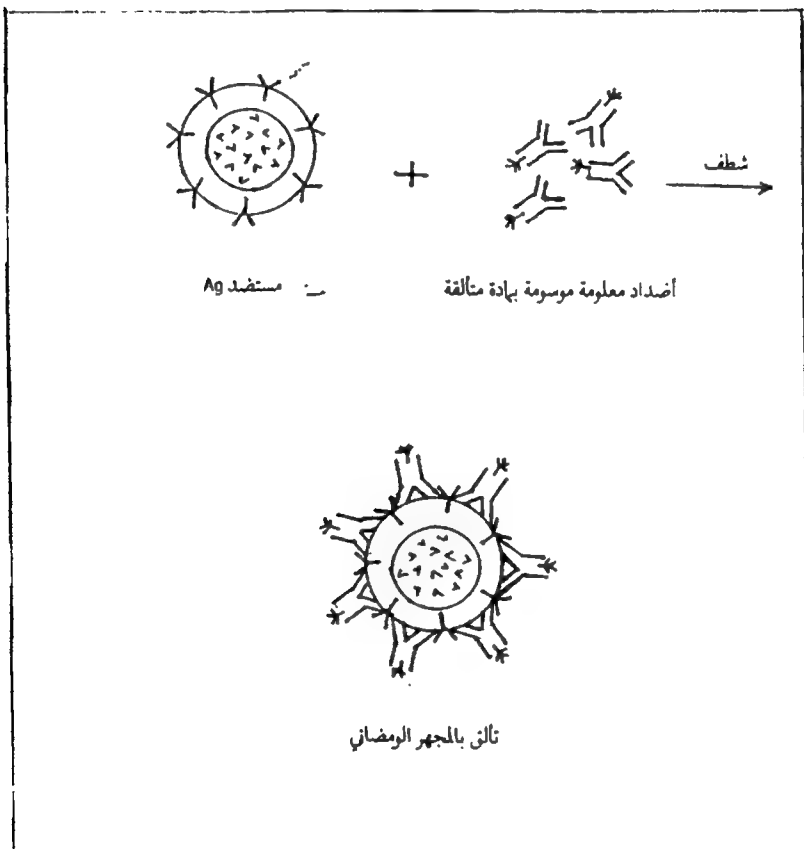
- يمكننا الآن ربط ذرات من هذه المتآلقات مع أضداد (أو مستضدات) نوعية بطرق خاصة دون أي تأثير على خصائص الأضداد (أو المستضدات)، وذلك لإجراء اختبارات التآلق المناعي بنوعيه، خلال فترة حضن يسيرة (٥, ٠ ساعة) وبحرارة الغرفة (٢٠ - ٢٥ °م) عادة.

* الطرق :

أ - التآلق المناعي المباشر : Direct I.F

يُعامل المستضد المجهول (مصل المريض) مع الأضداد المعلومة الموسومة بالمادة المتآلفة، ونحضن المزيج لفترة معينة، ثم نغسل لإلقاء

الفائض من الأضداد خارجاً، ثم نفحص الباقي بالمجهر الومضاني .
 - إن وجود التآلق علامة على وجود الأضداد المتألقة النوعية وبالتالي



الشكل (٣٣): مبدأ التآلق المناعي المباشر

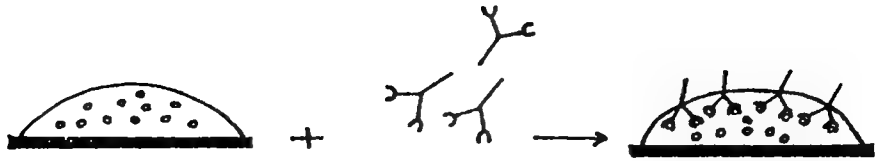
على وجود المستضد المجهول المتحرى عنه (والعكس بالعكس).
- هذا الاختبار مكلف جداً، ونخسر فيه الكثير من الأضداد النوعية المتألقة في كل مرة على حدة، كما أن حساسيته منخفضة نسبياً.
- يمكن أن يكون الضد مجهولاً والمستضد المتألق هو المعلوم الجاهز تجارياً.

ب - التآلق المناعي اللا مباشر : Indirect I.F.

حيث يُعامل الضد المجهول (مصل المريض) مع مستضدات نوعية عادية معلومة، وفي المرحلة الثانية للاختبار نضيف أضداداً نوعية موسومة للأضداد الإنسانية (ضد الضد)، وبعدها نشطف لطرح الفائض ونفحص الناتج بالمجهر الومضاني:

إن وجود التآلق تحت المجهر، لدليل على وجود الأضداد أصلاً في
مصل المريض.
أمثلة الاختبار:

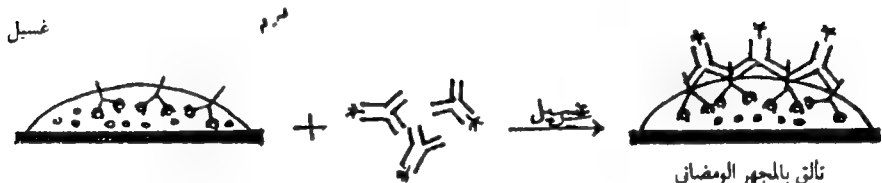
- كشف وعيار أضداد النوى ANA ، كشف وعيار أضداد الدنا DNA ،
كشف وجود بعض الحماة الراشحة، كشف وعيار أضداد المصوّرات القوسية - دراسة الغلوبولينات المناعية على سطح اللمفاويات البائية.
- إن حساسية طريقة التآلق المناعي اللا مباشر جيدة، ومن المهم فيها أن تكاليفها أقل بكثير من سابقتها.



صفحة زجاجية وعليها لطاخة
المنقذ النسيجي (Ag)
(مثلاً: نوى الخلايا)

مصل المريض الحاربي على الأضداد (Ab)
(مثلاً: الأضداد المضادة للنوى) ANA

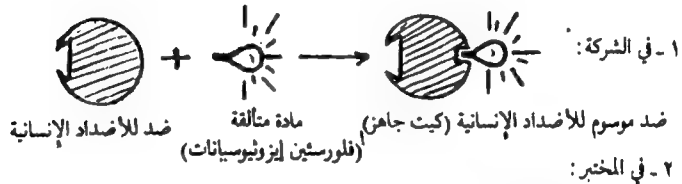
تشكل المعقد المناعي ضد - مستضد
Ag - Ab



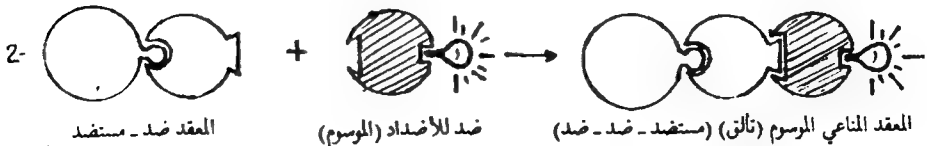
المعقد Ag Ab على سطح الصفحة بعد الغسل
أضداد مضادة للفلورولين
(موسومة ضد الضد)

تألق بالمجهر الوضائي

الشكل (٣٤): مبدأ التألق المناعي اللامباشر (أ) تمثيل لخطوات العمل على الصفحة



٢ - في المختبر:



الشكل (٣٤) تابع: ب - تمثيل ترميمي مبدأ تفاعلات التألق المناعي اللامباشر (تقرأ بالمجهر الوضائي)

* المَقَاسَة المناعية الخِثائرية

Enzym - Immunoassay / E.I.A (E.L.I.S.A)

المبدأ :

تعتمد هذه المقايسة على ربط جزيء الضد (أو المستضد) بأنظيـم معين ، ثم نَقْصَى وجود الضد (أو المستضد) مع تركيزه بإضافة ركيزة Substrat ملائمة لذلك الأنظيـم بحيث أن لون الركيزة الناتج يتناسب طرـداً مع الأنظيـم الموجود.

- عادة ما تربط الأضداد بأنظيمات البيروكسيداز، أو الغلوكوز أوكسيداز أو الفسفاتاز القلوية للإشريكيات القولونية ، وتكون الركيزة المناسبة لكل أنظيـم على التوالي :

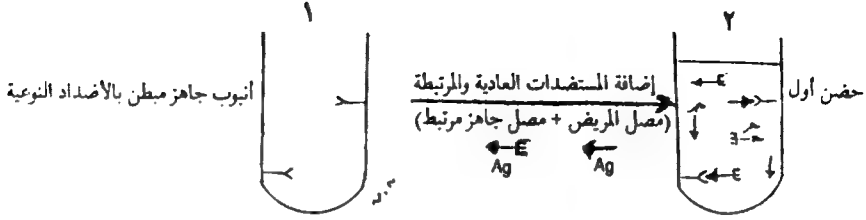
داي أمينوبنزدين مع وجود الماء الأوكسجيني (تُظهر لوناً رمادياً) ، أو الغلوكوز (يعطي لوناً أزرق) ، أوبيتا نافтол مع ملح داي أزونيوم (يظهر لوناً أحمر).

* مراحل العمل في طريقة أنابيب إلـيزا لـعيار الهرمونات :

- تخضّر الشركة الصانعة أنابيب جاهزة مبطنة بأضداد نوعية للهرمون المطلوب (Anti T3 مثلاً) .

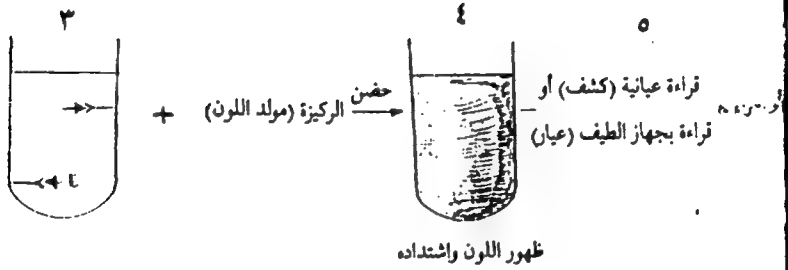
١ - في الطور الأول نضيف كمية محددة من مصل المريض (الحاوي على Ag الذي هو T3 في مثالنا) ونضيف كمية محددة من مستضد جاهز مربوط بالأنظيـم (T3* - بيروكسيداز مثلاً) .

١ - الطور الأول: التثبيت التنافسي.



إلغاء الفائض مع الغسل

٢ - الطور الثاني: إضافة مولد اللون «الركيزة» ومن ثم قراءة شدة اللون الناتج.



ضد ←
 ← (مصل) مستضد عادي
 ← E (جهاز) مستضد مرتبط

تشكل اللون،
 وهو ذو شدة تتناسب طردياً مع كمية الأنظمة E الموجودة

الشكل (٣٥): مبدأ اختبارات المقايسة المناعية الخثرية (E.I.A) ELISA

- في هذا الحوض الأول يحصل اتحاد بين أضداد بطانة الأنبوب من جهة، وكل من المستضدات العادية (T3) مع المستضدات المرتبطة بالأنظيم أيضاً (★ T3 - بيروكسيداز) من جهة أخرى، ويتم ذلك بشكل تنافسي تابع لتركيز كل منهما نسبة للآخر (تثبيط تنافسي).

- نقوم بعملية إلقاء الفائض مع الغسيل فتبقى الأضداد المبطنة لجدار الأنبوب متحدة مع المستضدات العادية (T3 من مصل المريض) والمستضدات المرتبطة بالأنظيم (بيروكسيداز-★ T3) أيضاً.

- وهنا نلاحظ أن تركيز المستضدات العادية (T3) يتناسب عكساً مع تركيز المستضدات المرتبطة، بعلاقة لوغاريتمية.

٢ - في الطور الثاني للتفاعل (الحوض الثاني) نضيف الركيزة المناسبة للأنظيم (Chromogen = مولد اللون) (داي أمينوبنزيدين في مثالنا) فيظهر لون يمكن قياسه بمقياس الطيف (فوتومتر) وبطول موجة معين.

*** انتبه وتفكر:**

إن شدة اللون الناتج تتناسب عكساً مع تركيز المستضد العادي (T3) بمثالنا) بعلاقة لوغاريتمية.

- تُقارن شدة الامتصاص (A) الناتجة، مع امتصاص مصول عيارية جاهزة معلومة لاستنتاج تركيز المستضد الموجود في مصل المريض (T3) بمثالنا: مصول عيارية معلومة للـ T3 (منحني بياني).

- يمكن إجراء هذه الاختبارات على بطاقة أنابيب كبيرة (Macro - E.L.I.S.A) ؛ أو على الصفائح ذات الأبار الدقيقة (Micro - E.L.I.S.A) بإضافة كميات أقل من كافة الكواشف واختصار الأزمنة والمواد .
الأمثلة :

عيار هرمون T3 - T4 - FSH - LH - برولاكتين - الإنسولين - IgE -
ديجوكسين... (بالطريقة الدقيقة أو العادية لـ: بيوميرو - بوهر
نجرمانهايم...).

المقايسة المناعية الشعاعية

Radioimmunoassay / R.I.A

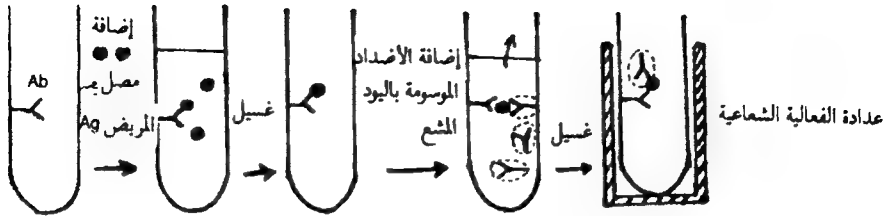
المبدأ :

نفس مبدأ المقايسة المناعية الخمائية، إلا أن الأضداد تُربط مع مادة مشعة (أو يدخل في تركيبها ذرة مشعة)، كالiodine 131 أو 125 ، ويحصل التثبيط التنافسي بين المستضدات العادية Ag (من مصل المريض) والمستضدات المشعة (131 Ag - I) للارتباط مع الأضداد على بطاقة الأنايب الجاهزة، أو الحرة المضافة. وفي النهاية نقيس النشاط الشعاعي المتبقي بالأنبوب بواسطة عدادة جايجر Gamma Counter، ويكون مقدار النشاط الشعاعي الناتج متناسب عكساً مع تركيز المستضد العادي (هرمون المريض)، ويتم مقارنة الأرقام مع عيارات معلومة جاهزة لاستنتاج تركيز هرمون المريض في المصل.

الأمثلة :

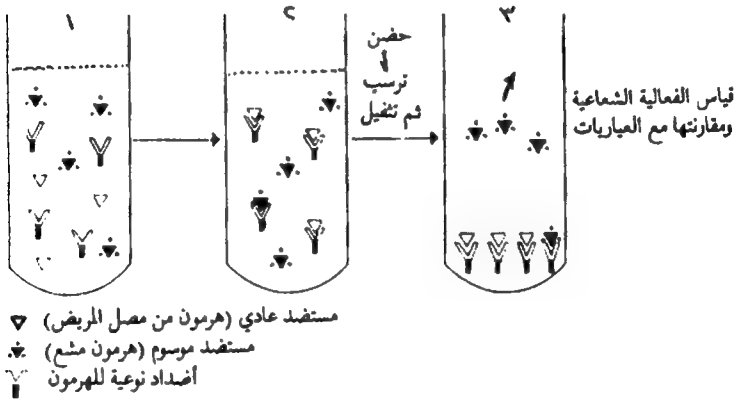
المعايير الهرمونية: TSH - T4 - T3 - كورتيزول - LH - FSH -
برولاكتين - إنسولين - هرمون النمو GH - كشف هرمون β -HCG في دم
المرأة الحامل

* لا ننسى أن هناك تعديلات متعددة على طرق الـ EIA و RIA تستخدم تقنيات مستحدثة أسهل وأدق للتعامل بدلاً من تجهيز الأنايب البطنة بالأضداد (وهي عملية دقيقة ومكلفة)، يطبق الاختبار على أنابيب جاهزة



إن الفعالية الشعاعية تشكل معقد الشظيرة المستند يرتبط بالضد حضان أنبوب مبطن بالأضداد تناسب طردياً مع تركيز Ag (T3) (ضد موسوم - مستضد - ضد) بالطور الصلب

الشكل ٣٣: مخطط مبسط لبدأ اختبارات المقايسة المناعية الشعاعية R.I.A. الأقدم من نمط (ساندويش)



▽ مستضد عادي (هرمون من مصل المريض)
* مستضد موسوم (هرمون مشع)
▽ أعداد نوعية للهرمون

- ١ - إضافة (مصل المريض + مستضد موسوم جاهز + أضداد نوعية جاهزة معاً).
- ٢ - الاتحاد مع الأضداد: وتشكيل (مستضد موسوم - ضد) + (مستضد عادي - ضد) وهي مرحلة التنشيط التنافسي بين نوعي المستضدات.
- ٣ - إلقاء الطافي بعد التنشيط ومن ثم قراءة الفعالية الشعاعية.

لاحظ: أن شدة الفعالية الشعاعية الناتجة تتناسب عكساً مع عيار الهرمون في مصل المريض!

الشكل (٣٦) ب- الطريقة الحديثة المعدلة.

عادية غير مبطنة، ويُضاف لها: مصل المريض (T3) مثلاً + T3 موسوم جاهز + أضداد ال-T3 الجاهزة.

- وبعد الحضان اللازم، تُضاف مادة بولي إيثيلين غليكول مثلاً P.E.G، فتسبب ترسب المعقدات المناعية Ag-Ab العادية والموسومة، في قرارة الأنبوب.

- يُغسل الأنبوب ويلقى بالطافي. وتبقى الرسابة لوحدها حاوية على

المعقدات المناعية (Ag-Ab) (Ag-Ab) يتم قياس النشاط الشعاعي في الرسابة بعدادة جايجر Gamma Counter، خلال زمن معين ثابت.

- إن كمية النشاط الشعاعي الناتجة تتناسب عكساً مع تركيز الهرمون (T3 في مثالنا) في مصل المريض.

- تقارن النتائج مع نتائج مصول عيارية معلومة لاستخراج التراكيز الهرمونية (منحني بياني).

الفصل الثالث

الاختبارات المناعية الشائعة

Immunological Tests

قبل البدء بسرد بعض الاختبارات المناعية الشائعة، لا بد من فهم مصطلحين هامين:

١ - الحساسية Sensibility:

إن حساسية اختبار مناعي ما لكشف الأضداد (أو المستضدات) هي: «أقل كمية من الأضداد (أو المستضدات) التي يمكن كشفها بذلك الاختبار» فنقول مثلاً أن الاختبار الذي يكشف ٢, ٠ وحدة/مل حساس أكثر من ذلك الذي يكشف ٥, ٠ وحدة/مل.

٢ - النوعية Spescificity:

إن نوعية اختبار مناعي ما، هي: «مدى تقيّد ذلك الاختبار في كشف الأضداد (أو المستضدات) النوعية بالذات دون تداخل الأضداد الأخرى إن وجدت».

١ - اختبار فيدال Widal Reaction:

وهو من تفاعلات التراص المباشر، ويطبّق لكشف الإصابة بالسلمونية التيفية أو نظائرها، إذ يتمّ اتحاد أضداد السلمونية الموجودة في مصل المصاب، مع المعلّقات المستضدية النوعية المعلومة (جاهزة تجارياً).
- إن أهم أنواع السلمونيلات المتحرّية عنها بتفاعل فيدال، والتي

تسبب الحمى المعوية، ثلاثة أنواع هي :

* السلمونية التيفية S.Typhi: T : أو عصيات إيبرت أو سلمونية D ؛ ولها مستضدان نوعيان :

مستضد جسمي T(O) ، وهديبي T(H) . (رَ: أهم المستضدات الجرثومية - الفصل الأول).

* السلمونية نظيرة التيفية S.Para.A: P.A ولها مستضدان نوعيان : جسمي P.A(O) ، وهديبي P.A(H) .

* السلمونية نظيرة التيفية S.Para.B: P.B ولها مستضدان نوعيان : جسمي P.B(O) وهديبي P.B(A) .

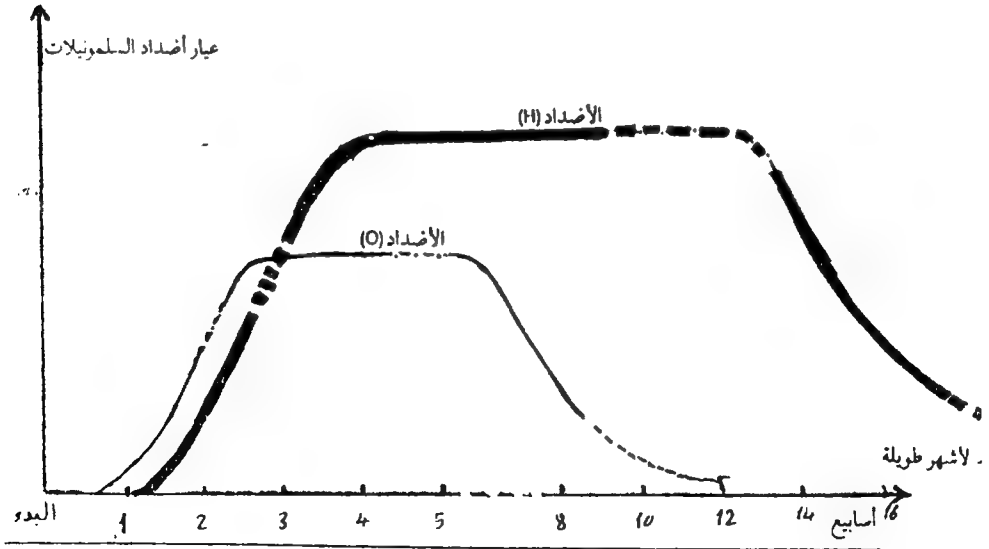
- ومن الملاحظ بدراسة المُجَدَّدات المُستَضْدِيَّة ، أن هناك قرابة مستضدية واضحة بين المستضدات الجسمية (O) للأنواع الثلاثة ، وبالتالي فإن أصداد P.A(O) أو أصداد P.B(O) يمكن لها أن تتحد مع المستضد T(O) ، أو بالعكس (بشكل أضعف ، وبالتحديدات المنخفضة) في حين أن التصلبات المناعية بين أصداد (H) الثلاثة : نادرة . (رَ: النوعية والتصلبات المناعية الفصل الأول).

- وهكذا نقول :

إن ارتفاع الأصداد الجسمية Anti: (O) يدل على إصابة حديثة .
وإرتفاع أصداد Anti (H) من نوع معين يدل على نوع السلمونية المسببة للإنتان (مثال : عيار أصداد O ← 1:160 و PA(H) ← 1:320 والباقي

والباقى سلبى . الدلالة : خمج بنظيرة التيفية (A) .

- ترتفع الراصات الجسمية (O) حوالى اليوم ٦ - ٨ من بدء المرض (أول الأسبوع الثانى)، وتبلغ ذروتها فى الأسبوع الثانى والثالث، وتستمر حتى الأسبوع الخامس حيث تنخفض بعده، فى حين ترتفع الراصات الهدبية (H) حوالى اليوم ٨ - ١٢ من المرض، وتبلغ ذروتها فى نهاية الأسبوع الثانى والثالث، إلا أن عيارها عندئذ يفوق عيار الأضداد الجسمية، وتستمر هكذا حتى الأسبوع الرابع إذ تبدأ بالانخفاض البطيء، وقد يبقى عيار الأضداد (H) عالياً لأشهر وقد يستمر لسنة، وكأنه «ندبة مناعية نوعية» على



الشكل (٣٧) : منحنى بيانى لأضداد السلمونيلا .

الإصابة القديمة بالسلمونيلة.

- يطبق تفاعل فيدال بطريقتين :

* تراص مباشر على الصفيحة : دقة أقل، حساسية أقل، أسرع، وأقل تكلفة، شائع الاستخدام.

- حضّرت الشركات المناعية (غامما - S.A.S-L.D.C) أربعة مستضدات مكثفة للسلمونيالات، لإجراء اختبار فيدال على الصفيحة :

معلق مستضدي مكثف (O) T. - معلق مستضدي مكثف (H) T.

معلق مستضدي مكثف (H) P.A. - معلق مستضدي مكثف (H) P.B.

العمل :

على صفيحة زجاجية شفافة جافة ونظيفة، مقسمة إلى أربع حجرات، مع وجود أرضية قائمة، وإضاءة أمامية سفلية بيضاء، نضيف على مراحل كما يلي :

١ - قطرة عيارية من المستضد (حوالي ٥٠ ميكروليتر) + ٥ ميكروليتر مصل المريض. نمزج بقعر أنبوب زجاجي نظيف أو بعود «بلاستيك» مع الفرش والتدوير، ونلاحظ : إذا حصل التراص خلال ٢ - ٣ دقائق، فهذا يعني أن تركيز الضد الموافق يساوي أو أكثر من ١:٣٢٠ وإن لم يحصل التراص نُكْمَل :

٢ - فنضيف ٥ ميكروليتر ثانية من مصل المريض فوق ما سبق، ونمزج مع التدوير، ونلاحظ : أن حصول التراص يعني أن تركيز الضد الموافق ١:١٦٠

وإن لم يحصل التراص نُكمل :

٣ - فنضيف ١٠ ميكروليتر مصل المريض فوق ما سبق ، ونمزج مع التدوير ونلاحظ : حصول التراص يعني أن تركيز الضد الموافق ٨٠ : ١ ، وإن لم يحصل نُكمل :

٤ - فنضيف أخيراً ٢٠ ميكروليتر مصل مريض فوق ما سبق ونمزج مع التدوير ، ونلاحظ : أن حصول التراص يعني أن تركيز الضد الموافق ٤٠ : ١ ، وإن لم يحصل نعطي النتيجة : سلبي للضد الموافق (-) Neg. .

- نجري ما سبق على المستضدات الأربعة . لاحظ أننا نستخدم قطرة عيارية وحيدة من كل مستضد ، والإضافات تكون لمصل المريض بالتدريج .

- إن تراص الـ (O) ناعم ودقيق ، وتراص الـ (H) أكبر وأوضح ، أما تراص البروسيلات (رايت) فهو أكثر وضوحاً .

- تجنب الجفاف ، ولا تزيد من قطر دائرة المستضد عند المزج .

* تراص مباشر في الأنابيب : دقة أفضل ، حساسية أفضل ، أبسط ، وأكثر تكلفة بكثير ولا يجرى إلا في المراكز العلمية .

التقييم : نتوجّه لوجود إصابة بالسلمونية عندما يكون عيار الأضداد الجسمية 1:100 إلى 1:160 أو أكثر عند أخذ العينة في مطلع الأسبوع الثاني ، وارتفاع الأضداد (H) يدل على نوع السلمونية المسببة .

- نتأكد من التشخيص عند إعادة الاختبار بنفس الأيدي والكواشف

والمخبر، ثانية، بفاصل ٢ - ٤ أيام، وعند الإصابة الأكيدة نلاحظ حصول ارتفاع عام في عيار الأضداد الجسمية والهدبية ٢ - ٤ أضعاف ماكان عليه في البدء.

التصالبات :

يمكن لبعض الحماة الراشحة (حمات الأنفلونزا) والعصيات الليمونية Citrobacter وبعض ذراري الإشريكيات القولونية واليرسينيا السلية الكاذبة، أن تسبب ارتفاعاً في عيار الأضداد (H) أو (O)، لكن العيارات تبقى منخفضة عموماً (لا تتجاوز 1:40 - 1:60 عادة) وتستمر لفترة وجيزة فقط مع تراص ضعيف.

م : يطبق اختبار رايت Wright test بنفس طريقة وأرقام اختبار فيدال، ويطبق رايت لكشف أضداد البروسيلات المالطية أو المجهضة (الحمى المالطية)، مع تأخر زمني لأسبوع، إذ قد تستغرق الأضداد مدة أسبوعين تقريباً حتى تصبح قابلة للكشف والعيار باختبار رايت.

٢ - كشف وعيار أضداد الحالة العقدية :

Anti - Streptolysin O / A.S.L.O

- تسبب العقديات المقيحة A أحماجاً متنوعة، بآلية مباشرة: كما في التهاب اللوزات الجرثومي القيحي الحاد، والتهاب شغاف القلب الجرثومي تحت الحاد وأحماج الجلد (القوباء والحمرا . . .) أو بآلية مناعية غير مباشرة: عن طريق تداخل ذيفاناتها الخارجية بأمراض المناعة الذاتية (التهاب كبد

الكلية - التهاب شغاف القلب ودساماته بها يسمى بالرتية القلبية - الرتية المفصلية (...).

- تفرز العقديات Streptococcus ، منتجات سمية (ذوفانات) خارج خلوية متنوعة أهمها: الذوفانات العقدية الحالة DNA.ase ، هياالورونيداز، ستر بتوكيناز. . .

- تفرز ٩٠٪ من المكورات العقدية زمرة A (العقديات المقيحة) خيرة حالة لدم الخروف تعمل بجو محوي الأوكسجين (الحالة العقدية S.L) وأخرى تعمل بجو قليل الأوكسجين (الحالة العقدية O) نسميها الحالة العقدية (O) أي S.L.O (Strepto. lysin. O) .

- نستطيع دراسة أثر الحالة الدموية الأولى S على الأغار المدمى بدم الخروف منزوع الليفين، وغالباً ما يكون الانحلال من نمط B (تام) ؛ في حين أننا نلجأ لعيار أضداد الحالة العقدية (O) في مصل المريض المصاب كعلامة على الخمج العقدي وذيفاناته، إذ يظهر لدى ٩٠٪ تقريباً من المرضى المصابين حديثاً بـخمج العقديات زمرة A ، ارتفاع في عيار أضداد الحالة العقدية ASLO كدليل على الإصابة العقدية الحديثة ، أو القديمة نوعاً ما (شهور) .

- عند حدوث الخمج العقدي، تزداد الـ ASLO بدءاً من اليوم السابع تقريباً (الأسبوع الثاني للإصابة) وتصل إلى تركيزها الأعظمي في الأسبوع ٤ - ٦ من البدء، ويبقى تكرار العيار لأكثر من مرة - كما هو الحال في الاختبارات المناعية - بفواصل أسبوع أو أسبوعين ذو أهمية تشخيصية كبيرة؛

وتستمر الأضداد لمدة شهور وربما تبقى لسنة أو أكثر. وهكذا نلاحظ أن ليس كل ارتفاع في عيار ASLO دليلاً على إصابة حديثة فقط ، فقد تكون قديمة لأشهر.

- القيم الطبيعية : عند الأطفال : حتى ٢٥٠ وحدة تود* .

عدد الكهول : حتى ٢٠٠ وحدة تود.

• يمكن كشف الـ ASLO وعيارها بعدة طرق :

١ - بطريقة اللاتكس اللامباشر على الصفيحة : سريعة - دقة وحساسية أقل . (ر: التراص اللامباشر على الصفيحة - الفصل الثاني) .

٢ - بتفاعل تعديل : بوجود SLO جاهزة مع وقاء خاص ودم خروف مغسول مع سلسلة تمديدات لمصل المريض : أبطأ - نوعية - دقة وحساسية أفضل (راجع تفاعلات التعديل) :

العمل :

١ - حضّر تمديدين اثنين لمصل المريض ، في وقاء فسفاتي (PH=6.6±0.1) كما يلي :

• تمديد A (١:١٠٠) : ٢ مل وقاء + ٢٠ ميكروليتر مصل المريض .

• تمديد B (١:٣٠٠) : ٤ , ٠ مل وقاء + ٢ , ٠ مل من التمديد A السابق .

* - وحدة تود اصطلاحاً : هي مقلوب تمديد المصل .

٢ - إملأ أنابيب جافة ونظيفة كما يلي (سلسلة تمديدات بالوقاء):

رقم الأنبوب	١	٢	٣	٤	٥	٦
التمديد النهائي الناتج	١:١٠٠	١:٢٠٠	١:٤٠٠	١:٨٠٠	١:٦٠٠	١:١٢٠٠
وقاء الـ ASLO	—	مل ٠,٥	مل ٠,٥	مل ٠,٥	مل ٠,٥	مل ٠,٥
مصل ممدد A	٠,٥	مل ٠,٥	مل ٠,٥	مل ٠,٥	مل ٠,٥	مل ٠,٥
مصل ممدد B	—	—	—	—	مل ٠,٥	مل ٠,٥
ستر بتوليزين جاهز	مل ٠,٢٥	مل ٠,٢٥	مل ٠,٢٥	مل ٠,٢٥	مل ٠,٢٥	مل ٠,٢٥

وفي أنبوب ٧ ضع: ٠,٥ مل وقاء + ٠,٢٥ ستر بتوليزين (شاهد إيجابي)

٣ - إمزج الأنابيب، واحضن بالدرجة ٣٧° م لمدة ١٥ دقيقة ثم:

مل ٠,٢٥	مل ٠,٢٥	مل ٠,٢٥	مل ٠,٢٥	مل ٠,٢٥	مل ٠,٢٥
معلق ٥٪ من دم	معلق ٥٪ من دم	معلق ٥٪ من دم	معلق ٥٪ من دم	معلق ٥٪ من دم	معلق ٥٪ من دم
طازج + ومغسول	طازج + ومغسول	طازج + ومغسول	طازج + ومغسول	طازج + ومغسول	طازج + ومغسول

- وفي الأنبوب ٧ ضع ٠,٢٥ مل معلق كريات أيضاً.

- وفي أنبوب ٨ ضع ٠,٧٥ مل وقاء + ٠,٢٥ مل معلق كريات

(شاهد كريات سلبي).

٤ - امزج جيداً، احضن بالدرجة ٣٧° م بالحمام المائي لمدة ٤٥ دقيقة، ثم
نقل بهدوء.

- إن أعلى تمديد لا يبدي انحلالاً هو المطلوب.

- تكتب النتيجة بـ: وحدة Todd unit وهي اصطلاحاً: مقلوب التمديد السابق: (مثلاً: أعلى تمديد لا يبدي انحلالاً هوفي الأنبوب ٣ (٤٠٠: ١) والنتيجة:

عيار أصداد الحالة العقدية ٤٠٠ وحدة تود).

* تأكد! يجب أن يكون الانحلال كاملاً في الأنبوب ٧ (شاهد إيجابي).
* تأكد! يجب أن لا يكون هناك أي انحلال في الأنبوب ٨ (شاهد سلبي).
الوقاء: إما أن يكون عبارة عن مسحوق جاهز مع الكيت، أو يحضر يدوياً كما يلي:

١٨ غ	فسفات ثنائية الصوديوم Na_2HPO_4
٣٢ غ	فسفات أحادية البوتاسيوم KH_2PO_4
٧٤ غ	ملح الطعام النقي NaCl

١٢,٤ غ تكمل ← ١ لتر بالماء المقطر.
($\text{PH} = 6.6 \pm 0.1$) عن تود.

٣ - العامل الرثياني Rhumatoid Factor / RF: التعريف:

العامل الرثياني عبارة عن مجموعة غلوبولينات مناعية (من نوع IgM غالباً مع قليل من ال-IgG) مضادة للغلوبولينات المناعية الذاتية للإنسان، تشكلت بأسباب مجهولة في سياق أمراض المناعة الذاتية، وهما كشفها وعيارها في تشخيص الحمى نظيرة الرثية (الداء الرثياني).

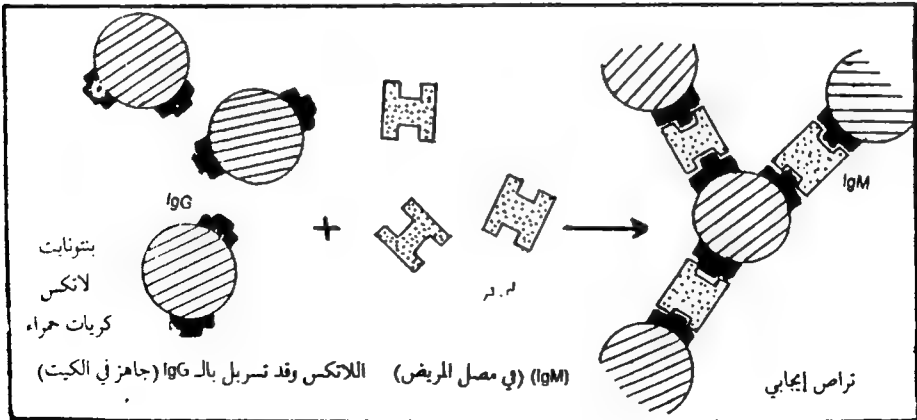
(ذاتي IgG Anti IgM RF = RF) .

- إن الطرق المطبقة تعتمد على كشف نوع الـ IgM فقط دون غيره ، وهي تستخدم غلوبولينات جاهزة IgG تسربل جزيئات اللاتكس ، وهذا الـ IgG تكون بمثابة المستضد الذي سيتحد مع العامل الرثائي ، الذي سيلعب دور الضد عند وجوده .

- يتم كشف وعيار الـ RF معايرة نصف كمية بطرق مختلفة أهمها :

١ - بالتراص الدموي اللا مباشر (تفاعل وولرون) على الأنابيب (بكرات حمر الخروف) .

٢ - بتراص اللاتكس اللا مباشر على الصفيحة أو على الأنابيب (راجع التراص اللا مباشر) : على صفائح سوداء ، وبإضاءة أمامية علوية بيضاء (تجنب الجفاف) .



الشكل (٣٨) : شكل ترميمي يوضح اختبارات التراص المختلفة المجرة لكشف العامل الرثائي

التقييم : إن العيار الهام والمميز لداء التهاب المفاصل الرثياني هو أكثر أو يساوي ٨٠ : ١ ، أما التراكيز الأقل من ذلك فتدل على حالات التهابية مناعية أو خمجية أخرى مع التهاب المفاصل الرثياني ، ومن هنا نلاحظ أهمية ذكر العيار عند كل تراص .

- تبلغ نسبة إيجابية العامل الرثياني في مصل المرضى المصابين حوالى ٧٠٪ فقط ، فإيجابية العيار السابق توجه نحو وجود الداء الرثياني ، أما سلبه فلا تنفي ذلك .

- إن العامل الرثياني إيجابي في السائل المفصلي المصاب عند ٦٠٪ من المرضى فقط .

- تنخفض إيجابية العامل الرثياني حتى ١٠ - ٢٠٪ فقط عند المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني الشبابي (لديهم RF من نوع IgG) .

- ينخفض عيار الـ RF وقد يغيب أثناء فترات هجوم المرض ، ويرتفع خلال أشهر من الهجمات الحادة .

٤ - البروتين الارتكاسي التحسسي C C.R.P

C.Reactive Protein

- ينشأ هذا البروتين في الكبد ، وهو موجود في الدم بكميات زهيدة ، ويزداد عياره في آفات مرضية كثيرة ومتنوعة ، الأمر الذي يجعل من كشف CRP بالمصل أمراً غير نوعي لمرض معين ، وإنها له دلالة على وجود فعالية التهابية ما بالجسم .

التقييم : إن ارتفاع كمية الـ CRP له نفس دلالة ارتفاع معدل ترسب الكريات الحمراء (سرعة التثفل E.S.R)، إلا أن الـ CRP له حساسية أعلى ، ويرتفع بسرعة أكبر وبشكل أبكر: من سرعة التثفل ، كما أن عودته للطبيعي أسرع من التثفل .

- ترتفع قيم البروتين الارتكاسي C في أمراض كثيرة أهمها:

أ- الأمراض الخمجية الحادة: خمج اللوزات القيحي الحاد - خمج البلعوم القيحي الحاد - خمج الأذن الوسطى القيحي الحاد - أخماج الجلد الحادة - الجرثومية (الدمامل - القوباء) - أخماج شغاف القلب القيحية الحادة - الإصابات السلية الحادة - ذات القصبات والرئة الجرثومية الحادة . . .

ب- الأمراض النخرية الحادة: (أي المترافقة مع نموت نسيجي): كما في إحتشاء العضلة القلبية - إحتشاء الرئة - إحتشاء أوعية البطن المسارية - إحتشاءات الدماغ . . .

ج- الأمراض الإلتهابية الحادة: كما في الهجمات الحادة للإلتهاب المفاصل الرثياني - الهجمة الحادة للإلتهاب كبب الكلية - الرثية المفصلية الحادة - الرثية القلبية الحادة . . .

- يتم كشف الـ CRP وعيابه بطرق كثيرة، أهمها:

١ - الانتشار المناعي البسيط: ونعطي فيه عيار البروتين الارتكاسي بدقة مغ/دسل (أضداد للـ CRP ضمن الهلام).

٢ - اللاتكس اللا مباشر على الصفيحة: حيث تُثبت أضداد الـ CRP على جزيئات اللاتكس؛ ويكون التعبير بالنتيجة: إيجابي خفيف (+)، أو

متوسط (++)، أو شديد (+++)، دون إجراء العيار. (على عكس الـ RF). (راجع التراص اللا مباشر). ويتم العمل على الصفائح السوداء كما سبق.

٥ - اختبارات الحمل المناعية : Pregnancy Tests:

على الرغم من بساطة الطرائق المطبقة لكشف الحمل في المختبر الطبي، غير أن كلمة (يوجد حمل) أو (لا يوجد حمل) تعني الكثير والكثير جداً بالنسبة للأسرة، وللطبيب الفاحص، الذي سيمتنع عن استعمال قائمة طويلة من الأدوية، وسيضطر لاستخدام الأدوية الضرورية حصراً على الرغم من الحاجة لغيرها. . . إن هذا القرار الهام يتجاوز بكثير مجرد إضافة قطرة كاشفة فوق عينة بول المرأة للوصول إلى النتيجة السهلة ببساطة!

- إن أساس اختبارات الحمل فيما مضى وإلى الآن هو: كشف هرمون «النمي التناسلي الكوريوني الإنساني» والذي يرمز له اختصاراً بـ H.C.G عند المرأة الحامل، في بولها أو في الدم، على اختلاف الطرق المطبقة.

- هرمون الـ H.C.G الذي يدل على وجود الحمل، هو بروتين سكري تفرزه الطبقة المغذية من مشيمة الجنين (المضغة)، ويتألف من سلسلتين رئيسيتين: الجزء ألفا α ، والجزء بيتا β ، والسلسلة α في HCG تتشابه مع السلسلة α أيضاً في الهرمونات التالية: T.S.H, F.S.H, L.H . . . في حين أن السلسلة β والقطعة ($\alpha + \beta$) متميزتان في HCG عن سائر الهرمونات

الأخرى، وهذا أمر هام لنوعية الاختبارات. (ر: النوعية أول الفصل الثالث).

- يبدأ إفراز الـ HCG منذ أول الحمل، ويبلغ ذروته في الأسبوع العاشر في المشيمة والدم والبول، ثم ينحدر سريعاً للثلث حتى حوالي الأسبوع العشرين، ويستمر بهذا المقدار حتى آخر الحمل، وهذه الأرقام عُرضة للتغيير بين امرأة حامل وأخرى بشكل واضح وهام، الأمر الذي يفرض علينا إعادة التحليل لأكثر من مرة أحياناً للتأكد من حالات السلبية.

- استعملت الاختبارات الحسوية سابقاً (اختبار الحمل الحسوي لتشخيص الحمل) وذلك بحقن بول المرأة الحامل لفئران التجربة، أو الأرانب، ولكن الاختبارات الحيوية القديمة هذه اضمحلت وتراجعت شيئاً فشيئاً لتفسح المجال للاختبارات المناعية التي طبقت منذ عام ١٩٦٠ على نطاق واسع (أسهل - أدق - أسرع . . .).

- هناك عدة عوامل تجعل كشف الـ H.C.G. بالبول عُرضة لتغيرات واسعة في المرأة. نعدُّ منها: تمُدُّ عينة البول بتناول السوائل (ماء - شاي - قهوة . .) مما يؤدي إلى انخفاض تركيز H.C.G. خاصة في الأيام الأولى - عدم معرفة الوقت الحقيقي للإباضة وللحظة الإلقاح - اضطرابات الدورة الطمثية عند بعض النساء أو نسيانهن لها . . وغيرها كثير . . وكلها أمور تجعل إعادة الاختبار، أو التريث لأيام في إجراءاته: أمراً هاماً، وهذه الاعتبارات كلها لها قيمة في حساسية الاختبارات (ر: الحساسية: أول

الفصل الثالث)

تطبق عدة طرق لكشف هرمون H.C.G في بول المرأة الحامل، وفي مصلها،
وَأَثَرَتْ تصنيفها حسب حساسيتها، فأقول: (١)

- طرق كشف الـ HCG في بول المرأة الحامل:

إن كيتات * الحمل المحضرة لهذه الطريقة تكشف مقداراً أعلى أو
يساوي: ٣, ٠, ٥ - ٣ وحدة دولية H.C.G / مل بول، لا أهل من ذلك
على اختلاف حساسية كل كيت عن الآخر؛ وفي حال كانت عينة البول
الصباحية وعلى الريق، والدورة منتظمة، فإن هذه الكيتات تكشف الحمل
منذ اليوم ٦ - ١٠ من تأخر الدورة الطمثية وقد تضطر للإعادة في حال
السلبية:

أ- طريقة اللاتكس اللامباشر على الصفيحة:

حيث تقوم الشركة الصانعة بتثبيت Anti - H.C.G على جزيئات
اللاتكس.

- تُعامل قطرة من كاشف اللاتكس مع قطرة بول رائق (بعد تثفيله إن
كان عكراً، والترشيح بالمرشح المرافقة لا يكفي، بل لا بد من التثفيل)،
وظهور التراص يعني: حمل إيجابي (+) (خلال ٣ دقائق) وعدم ظهور
التراص: حمل سلبي (-)، وهنا قد نحتاج للإعادة بعد ٥ - ٧ أيام ثانية

* كيتات: Kit = مجموعة المواد الكاشفة الجاهزة.

للتأكد . يجري الاختبار على صفيحة سوداء مع إضاءة أمامية عمودية بيضاء .
تجنب الجفاف .

أمثلة عن الشركات المصنعة : Human - Organon - Biokit ...

٢ - طريقة نهي تراص اللاتكس على الصفيحة :

الكيت هنا يحوي زجاجة كاشفة ثانية وهي زجاجة المصل الضدي Anti Serum وهي (Anti - HCG) على شكل محلول سائل غير معلق ، مهمته إحداث نهي تراص جزيئات اللاتكس على الصفيحة (خلال ٣ دقائق) .
يتم هذا الاختبار على مرحلتين (دائماً على طالي البول الرائق) :

١ - المرحلة الأولى :

قطرة بول (H.C.G الحامل) + قطرة من المصل

(جاهزة تجارياً) .

في حال حوى بول المرأة على H.C.G ، يتم تعديل الـ H.C.G بالمصل الضدي ، ولا نشاهد أي تراص عياناً في هذه المرحلة .

٢ - المرحلة الثانية :

تضاف جزيئات اللاتكس المسربة بالـ H.C.G (جاهزة : كاشف لاتكس) : فإذا لم يحصل أي تراص ، فمعنى هذا أن بول المرأة يحوي الـ H.C.G عدلت بالـ Anti H.C.G السابق وهذا يدل على وجود الحمل .
(عدم حصول التراص = نهي تراص اللاتكس → حمل إيجابي «+»
خلال ٣ دقائق) .

- أما في حال عدم احتواء بول المرأة على الـ H.C.G ، وبعد إضافة كاشف اللاتكس، ستتحّد أضداد Anti H.C.G الجاهزة مع جزيئات اللاتكس المسربلة بالـ H.C.G مسببة تراص اللاتكس .
(حصول تراص اللاتكس \longleftrightarrow حمل سلبي «-»).

- يجري الاختبار - مثل كافة اختبارات اللاتكس - على صفيحة سوداء ، مع إضاءة أمامية علوية بيضاء ، تجنب حدوث الجفاف .
- من الممكن تطبيق نهى التراص باللاتكس على الصفيحة ، وهناك كيتات تطبق مبدأ نهى التراص الدموي على الأنابيب ، ومثال الصفيحة باللاتكس شركات : S.A.S - Wampole . . .

٣ - طريقة التراص الدموي اللا مباشر على الأنابيب :

وتصل حساسية هذه الطريقة إلى كشف ٠,٠٧٥ وحدة HCG / مل بول وهي تحتاج لـ ٢ - ٣ ساعات للقراءة ، ويسمى البعض . «كشف الحمل الباكر» (٧٥ ملي وحدة / مل بول) . وربما كشفت الحمل في اليوم الأول لتأخر الدورة مثالا : شركة أورغانون - أنابيب ، شركة وامبول - دياميد . . .

- طرق كشف وعيار الـ H.C.G بدم المرأة (المصل) :

والتطبيق الهام لها هو متابعة حالات الرّحى العداريّة (الحمل العنقودي) أو سرطان المشيمة (كوريوكارسينوما) بعد الاستئصال والمعالجة .
- يتم استخدام طريقة المقايسة المناعية الشعاعية R.I.A ، وتتيح لنا

عيار كميات لا تتجاوز ٥, ٠ ميلي وحدة دولية H.C.G / مل مصل . (ميلي وحدة: جزء من الألف من الوحدة الدولية). وهي طريقة نوعية وذات حساسية ودقة فائقة، ولكنها مكلفة.

م ١ - هناك تطبيقات جديدة لكشف H.C.G بطريقة إلiza E.I.A على بول المرأة الحامل (دياميد).

م ٢ - إن البيلة البروتينية أو الدموية أو الجرثومية أو بعض الأدوية بالبول: كلها عوامل قد تسببت ظهور تفاعل حمل مناعي إيجابي كاذب في البول. كما أن تناول كميات كبيرة من السوائل أو عدم حفظ عينة البول جيداً قد يسبب ظهور تفاعل حمل سلبي كاذب.

م ٣ - للمزيد من المعلومات عن تقييم اختبارات الحمل المناعية، راجع في جزء تالٍ من هذه السلسلة.

بِعُونِهِ تَعَالَى

انتهى الجزء الثالث من هذه السلسلة

ويليه الجزءان الرابع والخامس بالموضوعات التالية :

- تحريات البول والراسب البولي مع فحوصات السوائل المصلية
- الدمويات العامة

ثبت المراجع

- ١ - محاضرات الأستاذ الدكتور محبوب جبرودي - المناعيات - قسم الطب المخبري - جامعة دمشق.
- ٢ - محاضرات الدكتور علاء الدين الصفدي - الجراثيميات - في قسم الطب المخبري - جامعة دمشق.
- ٣ - الترجمة العربية لقسم الجراثيم من كتاب Mosby Clinical Laboratory Methodes ترجمة الزميل، الدكتور محمد حسن آغا مع ثلة من أطباء الدراسات العليا - بإشراف الهيئة التدريسية في قسم الطب المخبري - جامعة دمشق.
- ٤ - هاريسون - الطب الباطني - الترجمة العربية - كلية الطب - جامعة دمشق.
- ٥ - يسائط علم المناعيات - تولى .ر. بوري - ترجمة: الأستاذ الدكتور هيثم الخياط.
- ٦ - دليل الطرائق الأساسية في المختبرات الطبية - منظمة الصحة العالمية.
- ٧ - علم النسيج العام - المرحوم الأستاذ الدكتور كنعان الجابي - كلية الطب - جامعة دمشق.
- ٨ - علم الجراثيم - الجزء العملي - الأستاذ الدكتور ميخائيل عبيد - كلية الصيدلة - جامعة دمشق.
- ٩ - علم الجراثيم - الأستاذ الدكتور عمر بلاش - كلية الطب - جامعة دمشق.

- ١٠ - علم الجراثيم - الأستاذ الدكتور عدنان تكريني - كلية الطب - جامعة دمشق .
- ١١ - الترجمة العربية لكتاب معالجة الأمراض الباطنة - كلية الطب - جامعة دمشق .
- ١٢ - محاضرات مترجمة لأطباء الدراسات العليا - قسم الطب المخبري - جامعة دمشق .

- 13 - Current: Medical Diagnosis - Treatment
- 14 - Cultur media - Merck - Criterion for Quality
- 15 - Clinical Wardround (B.I.germany):
- 16 - Difco - Manual - Bacteriology
- 17 - Bio - Mériexu: Bactériologie
- 18 - Petite Encyclopedie Médical
- 19 - Review of Medical Microbiology . 15 th. E.
- 20 - Interpretation of Diagnostic Tests 4 th E.

فهرس الموضوعات

الباب الأول: ٩

شروط استقبال العينات ومعاملتها في المختبر ١١

- مسحات البلعوم والأنف - القشع - البول - القيح والتحات القيحية - المني
- مفرزات الاحليل وأخماجه - البراز - الدم - عينات السائل النخاعي
وسوائل الأجواف المصلية.

الباب الثاني: ٦١

الصادات الحيوية والتحسس الدوائي

* الفصل الأول: المعالجة الكيميائية المضادة للجراثيم: ٦٣

- اكتشاف الصادات والسلفا.

- تصنيف العوامل الكيميائية المضادة للجراثيم:

وفق البنية الكيميائية.

وفق التأثير القاتل للجراثيم أو الموقف للنمو.

وفق التأثير على إيجابيات غرام وسلبياته.

وفق آلية التأثير على الجرثوم.

* الفصل الثاني: اختبارات تحسس الجراثيم للصادات الحيوية: ٧١

- اختبار التحسس بالأنابيب (التمديد).

- اختبار التحسس بالانتشار القرصي على الغراء (كيربي - باور).

- ملاحظات هامة حول اختبارات التحسس والأخطاء والمراقبة. واختيار

أقراص التحسس الملائمة لنوع الجرثوم ومكان الخمج.

الباب الثالث : ٨٥

فكرة عامة عن الأحياء الدقيقة الأخرى

* الفصل الأول : الحماة الراشحة ٨٧

* الفصل الثاني : الريكتسيات ٩١

* الفصل الثالث : المتدثرات (كلاميديا) ٩٣

* الفصل الرابع : المفطورات (ميكوبلازما) ٩٥

الباب الرابع : ٩٧

المناعيات العامة والمبادئ والاختبارات

* الفصل الأول : مبادئ المناعيات العامة : ٩٩

- المناعة اللا نوعية .

- المناعة النوعية :

أ - المنفعلة : الطبيعية والمكتسبة (الصناعية) .

ب - الفاعلة : التعرف المناعي - النوعية - الذاكرة المناعية :

- المستضدات : تعريفها - الاستضداد - القرابة المستضدية

النوعيات المستضدية والقوى - التصلبات المناعية - أهم أنواع المستضدات -

طرق دخولها للعضوية .

- خطوات التعرف المناعي على مستوى البلاعم واللمفاويات -

اللمفاويات البائية واللمفاويات التائية .

- النوعية المناعية والقرابة المستضدية .

- الذاكرة المناعية : تشارك اللمفاويات التائية والبائية فيها . الرد

المناعي الأولي والثانوي - مستويات الأضداد فيها .

- الأضداد (الغلوبولينات المناعية) : تعريفها وإفرازها - عينيها - خواصها -
موقعها في رحلان بروتينات المصل - أشكالها ووظائفها - أطوار الغلوبولينات
المناعية عبر حياة الطفل .

- جملة المتعمة : طريقتا تفعيلها : بالسبيل التقليدية بسبيل البروبردين
(البديل)

- مشاركة المتعمة في الرد المناعي ومثالها في أمراض المناعة الذاتية

- خلاصة المناعة الخلطية .

- خلاصة المناعة الخلوية .

* الفصل الثاني : مبادئ التفاعلات المناعية :

- شروطها الفيزيائية العامة - التراص الأعظمي (شبكة المعقدات المناعية)
وظاهرة المنطقة .

- تفاعلات التراص : التراص المباشر - التراص اللا مباشر .

- تفاعلات التعديل .

- تفاعل تثبيت المتعمة .

- تفاعلات الانتشار المناعي في وسط هلامي :

- الانتشار المناعي البسيط

- الانتشار المناعي المضاعف .

- تفاعلات التآلق المناعي (الومضان) :

- التآلق المناعي المباشر .

- التآلق المناعي اللا مباشر .

- المقايسة المناعية الخياطرية E.I.A
- المقايسة المناعية الشعاعية R.I.A
- * الفصل الثالث : الاختبارات المناعية الشائعة :
 - الحساسية والنوعية .
 - تقييم الاختبارات المناعية وإجراؤها :
 - اختبار فيدال ورايت .
 - كشف أضداد الحالة العقدية وعبارها A.S.L.O
 - العامل الرثاني RF
 - البروتين الارتكاسي التحسسي C.R.P
 - اختبارات الحمل المناعية على البول والمصل (دراسة مقارنة) .
- ثبت المراجع ١٧٥

